

# RECHERCHES SUR LE DOSAGE DES PENTOSES

APPLICATION A LA MESURE  
DE LA PENTOLYSE SÉRIQUE  
DANS LES ÉTATS CANCÉREUX

(Travail du Laboratoire de Pharmacie Chimique et Pharmacologie  
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon,  
et du Centre Régional Anticancéreux de Lyon et du Sud-Est)

---

## THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE),

présentée et soutenue publiquement  
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

le 27 Mars 1953.

PAR

Michel ROULLET

Né le 7 Décembre 1928, à Lyon (6<sup>e</sup>)

---

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX  
J. PATISSIER

1953



RECHERCHES  
SUR LE DOSAGE DES PENTOSES

APPLICATION A LA MESURE  
DE LA PENTOLYSE SÉRIQUE  
DANS LES ÉTATS CANCÉREUX



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

# RECHERCHES SUR LE DOSAGE DES PENTOSE

APPLICATION A LA MESURE  
DE LA PENTOLYSE SÉRIQUE  
DANS LES ÉTATS CANCÉREUX

(Travail du Laboratoire de Pharmacie Chimique et Pharmacologie  
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon,  
et du Centre Régional Anticancéreux de Lyon et du Sud-Est)

---

## THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

présentée et soutenue publiquement  
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

le 27 Mars 1953.

PAR

Michel ROULLET

Né le 7 Décembre 1928, à Lyon (6°)

---

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

J. PATISSIER

1953

# PERSONNEL DE LA FACULTÉ

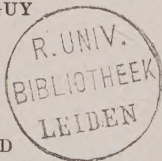
|                      |               |
|----------------------|---------------|
| Doyen honoraire..... | M. J. LÉPINE  |
| Doyen .....          | M. H. HERMANN |
| Assesseur .....      | M. J. GATE    |

## Professeurs Honoraires

MM. NICOLAS, VILLARD, COLLET, CLUZET, BÉRARD, GUIART, PIÉRY, CADE, PATEL, FAVRE, LÉPINE, SAVY, TRILLAT, LÉRICHE, MOURIQUAND

## Professeurs

|                                                                 |                                       |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Clinique médicale A.....                                        | FROMENT                               |
| Clinique médicale B.....                                        | P. RAVAUT                             |
| Clinique chirurgicale A.....                                    | SANTY                                 |
| Clinique chirurgicale B.....                                    | WERTHEIMER                            |
| Clinique ophtalmologique.....                                   | BONNET                                |
| Clinique oto-rhino-laryngologique.....                          | REBATTU                               |
| Clinique urologique.....                                        | CIBERT                                |
| Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....                  | DUFOUT                                |
| Clinique dermatologique et syphiligraphique.....                | GATE                                  |
| Clinique neuro-psychiatrique et Hygiène mentale..               | DECHAUME                              |
| Clinique des maladies infectieuses et bactériologie..           | SEDALLIAN                             |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....              | GUILLEMINET                           |
| Clinique gynécologique.....                                     | POLLOSSON                             |
| Clinique obstétricale.....                                      | PIGEAUD                               |
| Stomatologie .....                                              | DUCLOS                                |
| Clinique médicale infantile et Hygiène du 1 <sup>er</sup> Age.. | BERNHEIM                              |
| Pharmacie et Pharmacologie.....                                 | LEULIER                               |
| Physiologie .....                                               | HERMANN                               |
| Anatomie Pathologique.....                                      | J. F. MARTIN                          |
| Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie..             | PONTHUS ( <i>détaché à Beyrouth</i> ) |
| Médecine du Travail.....                                        | MAZEL                                 |
| Parasitologie et Pathologie exotique.....                       | GARIN                                 |
| Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire.             | ROCHET                                |
| Chimie organique et toxicologie.....                            | CHAMBON                               |
| Pathologie générale et expérimentale.....                       | JOSSERAND                             |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie.....                   | DELORE                                |
| Anatomie .....                                                  | GABRIELLE                             |
| Pathologie interne.....                                         | CROIZAT                               |
| Chimie biologique et médicale.....                              | ENSELME                               |
| Pathologie chirurgicale .....                                   | MALLET-GUY                            |
| Histologie .....                                                | NOËL                                  |
| Pharmacie galénique .....                                       | REVOL                                 |
| Médecine Légale et Déontologie.....                             | BOURRET                               |
| Thérapeutique .....                                             | LEVRAT                                |
| Hygiène .....                                                   | SOHIER                                |
| Biologie Médicale .....                                         | JOURDAN                               |
| Propédeutique chirurgicale .....                                | BERTRAND                              |
| Botanique et Cryptogamie .....                                  | NETIEN                                |



## Professeurs titulaires sans chaire

|                          |                         |                 |            |
|--------------------------|-------------------------|-----------------|------------|
| Chimie organ. et toxicol | BADINAND                | Obstétrique.... | BANSSILLON |
|                          | Pharmacie et Pharmacol. | DREVON          |            |

## Maitres de conférences — Agrégés

|                         |         |                    |         |
|-------------------------|---------|--------------------|---------|
| Physique biologique ... | BERGER  | Parasitologie..... | ROMAN   |
| Parasitologie .....     | COUDERT | Histologie .....   | TUSQUES |

## Agrégés en exercice

|                          |            |                          |             |
|--------------------------|------------|--------------------------|-------------|
| Pathologie médicale ...  | BRUN       | Obstétrique .....        | BROCHIER    |
| Pathologie médicale ...  | GIRARD M.  | Obstétrique .....        | MAGNIN      |
| Pathologie médicale ...  | GIRARD P.  | Anatomie pathologique.   | GUICHARD A. |
| Pathologie médicale ...  | JEUNE      | Anatomie .....           | LATARJET    |
| Pathologie médicale ...  | VACHON     | Urologie .....           | PERRIN      |
| Pathologie chirurgicale. | BERARD     | Ophtalmologie .....      | PAUFIQUE    |
| Pathologie chirurgicale. | DESJACQUES | Neuro-chirurgie .....    | LECUIRE     |
| Pathologie chirurgicale. | LABRY      | Oto-Rhino-Laryngologie.  | MAYOUX      |
| Pathologie chirurgicale. | TRILLAT A. | Dermato-syphiligraphie.. | THIERS      |
| Pathologie chirurgicale. | DARGENT    | Médecine légale et méde  |             |
| Pathologie chirurgicale. | MANSUY     | cine du travail.....     | ROCHE       |
| Pathologie chirurgicale  | GUILLET    |                          |             |

## Chargés des Fonctions d'Agrégés

|                        |             |                    |            |
|------------------------|-------------|--------------------|------------|
| Chimie biologique..... | CREYSSEL R. | Bactériologie..... | BERTOYE A. |
| Hygiène .....          | COUTURE     | Physiologie.....   | CIER       |

## Chargé de cours complémentaire

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| Physique pharmaceutique ..... | DORCHE |
|-------------------------------|--------|

## Examineurs de la Thèse

M. A. LEULIER, *Président*.

MM. P. SANTY, M. CHAMBON, B. DREVON et M. DARGENT, *Assesseurs*.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MES PARENTS

A MON FRÈRE

*En témoignage de ma profonde affection.*

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LEULIER

PROFESSEUR DE PHARMACIE ET PHARMACOLOGIE  
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE  
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE PHARMACIE  
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

## A NOS JUGES

### MONSIEUR LE PROFESSEUR P. SANTY

PROFESSEUR DE CLINIQUE CHIRURGICALE  
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE  
MEMBRE NON RÉSIDENT DE L'ACADÉMIE DE CHIRURGIE  
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

### MONSIEUR LE PROFESSEUR M. CHAMBON

PROFESSEUR DE CHIMIE ORGANIQUE ET TOXICOLOGIE  
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE PHARMACIE  
PHARMACIEN DES HÔPITAUX  
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

### MONSIEUR LE PROFESSEUR B. DREVON

PROFESSEUR SANS CHAIRE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE  
PROFESSEUR AGRÉGÉ DU VAL-DE-GRAVE

### MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. DARGENT

CHIRURGIEN DES HÔPITAUX

A NOS MAITRES  
DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX DE LYON

A MES CAMARADES  
DE L'INTERNAT ET DE LA FACULTÉ

C'est dans le laboratoire de Monsieur le Professeur LEULIER que nous avons accompli ce travail. Nous ne savons trop aujourd'hui de quoi nous sommes le plus redevable à notre Maître : de l'ardente persuasion de son enseignement, ou du doute éclairé qu'il place à la base de toute recherche constructive. Très sensible à l'honneur qu'il nous fait en présidant notre thèse, nous le prions d'accepter l'expression de notre profonde gratitude.

Après nous avoir permis de réaliser au Centre Anticancéreux les essais qui constituaient en propre la fin de cette étude, Monsieur le Professeur SANTY a bien voulu se faire notre Juge. Prenant cette occasion de lui dire notre respectueuse admiration, nous lui présentons, en même temps que nos vifs remerciements, l'assurance de notre entier dévouement.

Monsieur le Professeur CHAMBON a été notre Maître à la Faculté et dans les Hôpitaux. A maintes reprises, il a encouragé nos efforts, accentuant notre volonté par l'effet d'une bienveillante exigence. Nous sommes heureux de le compter aujourd'hui parmi nos Juges, et de lui témoigner, en cette circonstance, notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur DREVON n'a pas été seulement l'instigateur de ce travail, il y a consacré une attention constante. Nous animant du même désir d'aboutir, il a sans cesse provoqué le développement de ces recherches, s'enquérant de chaque démarche, faisant le point des résultats acquis pour susciter une orientation efficace. Au terme d'une étude qu'il a rendue véritablement sienne, qu'il nous soit permis de lui exprimer notre réelle et très vive gratitude.

Nous avons trouvé auprès de Monsieur le Professeur Agrégé DARGENT un accueil très sympathique. Dans l'appli-

cation de la « pentolyse » aux états cancéreux, que nous avons effectuée dans son service, il a bien voulu faciliter l'exécution de nos essais, en même temps qu'apporter à leur interprétation la lumière du contexte clinique. Nous lui présentons, avec nos remerciements, l'assurance de notre dévouement.

Nous désirons encore, à l'occasion de ce travail, exprimer notre reconnaissance à Monsieur le Professeur REVOL. Dès le début de nos études, il nous a manifesté un intérêt très bienveillant, et nous n'avons cessé depuis de trouver en lui, dans les domaines les plus variés de notre activité, un conseiller attentif et très sûr. Qu'il veuille bien accepter l'assurance de notre profonde gratitude.

Nous avons connu Monsieur le Professeur Agrégé DORCHE bien avant de devenir son interne à l'Hôpital de la Croix-Rousse. Ne pouvant exprimer qu'imparfaitement notre attachement et notre estime à son égard, nous voudrions simplement lui redire l'amitié que respectueusement nous lui portons, en échange de celle dont il nous honore.

---

## Introduction

---

C'est en 1950, au V<sup>e</sup> Congrès International contre le Cancer, qu'un chercheur genevois, résumant un ensemble de travaux personnels antérieurs, annonçait, avec des preuves qui pouvaient paraître définitives, l'existence dans le sérum cancéreux d'une propriété enzymatique spécifique : celle de détruire *in vitro* les pentoses ajoutés.

Par analogie avec la glycolyse, le phénomène fut dénommé pentolyse. Ce que l'on savait déjà, à l'époque, de l'importance du métabolisme des pentoses dans la croissance cellulaire permettait, *a priori*, d'accorder créance à cette découverte : on imaginait assez bien en effet, que, devant l'intense prolifération cellulaire qui caractérise la tumeur en évolution, l'organisme acquit — par une sorte de réaction de défense dont il offre bien d'autres exemples — la propriété de se débarrasser des pentoses que libérait de façon accrue la transformation des acides ribose- et désoxy-ribose-nucléiques des noyaux cellulaires.

Ces idées simples, pour ne pas dire simplistes, sont piège courant pour le biochimiste. Mais l'expérience donnait apparemment raison à l'imagination : aussi bien chez le cancéreux, que chez l'animal rendu artificiellement porteur de tumeurs par traitement préalable au moyen de carbure cancérigène, la pentolyse de l'arabinose ou du ribose atteignait 10 à 30 % et parfois davantage, alors qu'avec le sérum normal la pentolyse était nulle ou jamais supérieure à 5 %.

Intéressante sur le plan biochimique pur, la pentolyse ne l'était pas moins sur le plan clinique : la spécificité de la réaction autorisait — après tant d'échecs antérieurs — un diagnostic chimique exact et peut-être précoce. Sans doute l'isolement ou tout au moins la concentration de l'enzyme spécifique n'était pas encore chose faite, mais la réaction pentolytique, mesurée sur plus de 2.000 sérums, attestait déjà sa valeur, et de toutes parts, principalement en Amérique et en Allemagne, les travaux de vérification commen-

L'essentiel de la réaction consistait dans un dosage comparatif d'un pentose, avant et après incubation à + 37° C. (toutes précautions étant prises évidemment, pour conserver la stérilité du milieu).

C'est de la correction et de la validité du dosage des pentoses, dont il fallait *d'abord* s'assurer. Ce travail analytique de contrôle préalable de la méthode chimique, qui nous a été confié par Monsieur le Professeur DREVON, avait un but précis et pratique : permettre de passer outre et d'aborder les deux points suivants : vérification de l'existence de la pentolyse sérique, application éventuelle au diagnostic des états cancéreux.

Ce programme très simple a été point par point exécuté. Chemin faisant, une méthode de dosage des pentoses a été étudiée en détail : un travail dont l'exposé pourra paraître fastidieux, a permis de garantir une précision de  $\pm 2\%$  dans le dosage du pentose ajouté.

Il était dès lors possible d'avancer en toute sécurité, et de procéder, en liaison avec le Centre Régional Anticancéreux de Lyon, aux vérifications demandées.

Disons d'un mot que cette seconde partie de notre travail n'a pas été sans quelque désillusion : dans la majorité des cas, les valeurs trouvées pour la pentolyse sont du même ordre que les erreurs inévitables d'expérience ( $\pm 2\%$ ). Quelques sérums possèdent cependant la propriété de détruire une proportion plus importante du pentose ajouté, mais cette propriété *n'est pas spécifique* des états cancéreux. Nous l'avons constatée aussi bien chez des sujets normaux que chez des malades atteints d'affections diverses autres que le cancer.

Notre guide au cours de cette étude a bien voulu nous affirmer que ces essais négatifs étaient monnaie courante en ce domaine, et qu'en tout cas c'était toujours un résultat positif, que l'acquisition d'une méthode de travail et l'apport de conclusions rigoureusement établies.

---

PREMIÈRE PARTIE

---

Le dosage des pentoses

---



Si les pentoses, de par leur configuration, leur pouvoir réducteur, la formation d'osazones et la déviation de la lumière polarisée, participent aux propriétés générales des oses, la production abondante de furfural (\*), sous l'action des acides étendus, paraît caractéristique de ces glucides à cinq atomes de carbone.

Cette réaction, mise en évidence pour la première fois par STONE et TOLLENS en 1888 (55), est à la base de presque toutes les méthodes de dosage des pentoses, le problème étant ainsi ramené à la détermination du furfural produit.

De nombreuses techniques ont été proposées à cet effet :

— les unes, pondérales, utilisent la condensation de l'aldéhyde furfurylique avec la phloroglucine, la phénylhydrazine, l'acide barbiturique, etc...

— les dosages volumétriques relèvent soit du traitement du furfural par le mélange bromure-bromate ou les dérivés chlorés, soit de la formation d'un composé d'addition avec le bisulfite.

— parmi les méthodes colorimétriques fondées sur l'obtention de produits de condensation avec les phénols, l'acétone, les amines, il convient de réserver une place prépondérante à la réaction à l'acétate d'aniline, qu'employait

---

(\*) Nous avons préféré le mot *furfural*, conforme aux règles de la nomenclature internationale, au nom de *furfurol*, d'usage encore très répandu, et que FOWNES avait proposé en 1845 pour rappeler l'aspect et la préparation de l'aldéhyde, obtenu à partir du son de blé.

déjà TOLLENS pour la caractérisation du furfural et que bien des chimistes continuent de mettre en œuvre.

— plus récemment la spectrophotométrie a fourni un procédé supplémentaire de détermination applicable à l'aldéhyde furfurylique.

Mais toutes ces techniques supposent la transformation préalable des glucides, alors qu'en 1950 TRACEY (60) adaptait au dosage colorimétrique des pentoses la réaction que ces corps produisent directement en présence d'acétate d'aniline. Nous donnerons à son étude un développement particulier.

---

## TITRE I

---

### Dosage des pentoses par transformation en furfural

---

La majorité des méthodes de détermination des glucides à cinq atomes de carbone comporte donc deux démarches essentielles, auxquelles correspondent logiquement les deux premières parties de cette étude :

1. La réaction de transformation des pentoses en furfural.

2. Le dosage de l'aldéhyde produit (nous envisagerons plus spécialement la technique colorimétrique à l'acétate d'aniline).

Nous proposerons ensuite un mode opératoire en application du même principe.



## CHAPITRE I

---

# LA RÉACTION DE TRANSFORMATION

---

### HISTORIQUE

En 1888, lors d'une étude systématique sur les hydrates de carbone, STONE et TOLLENS (55) signalent la production de furfural comme une réaction de l'arabinose.

Par distillation en présence d'acide sulfurique, les pentoses réagissent donc différemment des autres glucides (\*).

Durant les années suivantes, cette propriété fait l'objet d'une série de travaux, où le nom de TOLLENS s'associe à ceux d'ALLEN (56), GUNTHER (58), DE CHALMOT (57). Les auteurs, étudiant l'influence de divers acides et les conditions de distillation, donnent les premières indications sur le rendement de la transformation.

En France, BERTHELOT et ANDRÉ (4) aboutissent en 1896 à une conclusion semblable : la formation de furfural, par distillation, sous l'action des acides étendus, différencie, au moins par sa proportion considérable, les pentoses des hexoses.

Si ces derniers — comme l'avaient d'ailleurs montré SCHIFF, V. UDRANSKY, STONE et TOLLENS (55) — sont susceptibles de produire également des traces de furfural, c'est sans doute à partir des pentoses formés transitoirement dans leur décomposition.

---

(\*) On sait aujourd'hui que l' $\omega$ -hydroxy-méthyl-furfural, formé dans le cas des hexoses, se dédouble aisément, sous l'action des acides, en acides formique et lévulique.

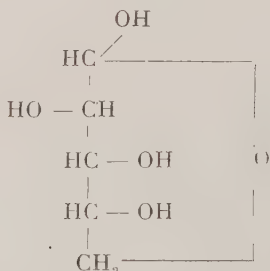
## ASPECT CHIMIQUE DE LA RÉACTION

Si l'on s'en tient à la formule brute, la transformation se présente comme une déshydratation :

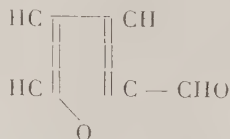


L'équation globale établie par BERTHELOT et ANDRÉ (4), pour un pentose du type arabinose, ne rend pas compte du détail de la réaction.

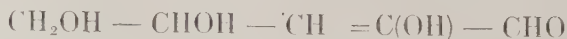
Pour élucider le mécanisme de la production de furfural, HURD et ISENHOUR (26) ont étudié l'action des acides minéraux dilués, aux températures de distillation, sur le furfural, l'arabinose, le rhamnose, le tétraméthylèneglycol, le cétoxylose, l'acide xylonique, la glycérine et l'érythrite, ce qui les a conduit à admettre, entre la molécule initiale de pentose (d-arabinose par exemple)



et l'aldéhyde furfurylique en résultant



la formation intermédiaire d'un premier produit de déshydratation



qui est cyclisé avec perte d'une seconde molécule d'eau, puis déshydraté de nouveau.

## MODALITÉS DE LA TRANSFORMATION

Par le simple énoncé de son mode opératoire initial, TOLLENS fixait les deux conditions essentielles à la transformation des pentoses en furfural : — chauffage — en milieu acide.

Mais si la distillation directe en présence d'acide sulfurique ou chlorhydrique suffisait à une réaction qualitative de caractérisation, l'application de la méthode au furfural à la détermination quantitative des pentoses nécessitait la mise au point d'une technique précise. Les modifications successivement proposées par de nombreux auteurs ont eu pour but d'améliorer le rendement de la transformation, et d'en assurer, par des modalités d'exécution bien définies, la stricte régularité.

Pour la clarté de l'exposé, nous grouperons les différents points étudiés à propos de chaque facteur mis en cause, envisageant respectivement l'influence

- de l'acidité,
- du chauffage,
- d'adjuvants,
- du mode opératoire.

## INFLUENCE DE L'ACIDITÉ

L'action d'un acide est indispensable à la déshydratation des pentoses en furfural (\*). HURD et ISENHOUR (26) n'indiquent-ils pas que la transformation ne peut s'opérer sous l'effet d'agents déshydratants tels que l'anhydride phosphorique ou le chlorure de zinc anhydre.

Mais si l'on s'accorde à reconnaître que le rendement de la réaction dépend étroitement du pH, comme le

---

(\*) On notera d'ailleurs l'intérêt d'un tel réactif pour l'étude des produits de condensation rencontrés dans le règne végétal (ce qui constitua l'objet principal des premières applications). L'acide joue ici un double rôle : hydrolysant d'abord les pentosanes, puis réalisant la transformation en furfural des molécules simples issues des polymères.

soulignent notamment FULMER, CHRISTENSEN, HIXON et FOSTER (22), les opinions diffèrent sur la nature de l'acide à employer et sa concentration.

### Nature de l'acide.

La réaction exige une acidité forte, ce qui limite en principe le choix aux seuls acides minéraux (\*).

Trois d'entre eux essentiellement ont été retenus :

— L'expérimentation primitive de TOLLENS mettait en œuvre l'acide sulfurique.

— Peu après, cet auteur, ainsi que STONE, DE CHALMOT ont employé l'acide chlorhydrique, ALLEN et TOLLENS (56) estimant dans ces conditions la production de furfural plus régulière et soumise à de moindres fluctuations.

— Les recherches de BERTHELOT et ANDRÉ (4) font état soit de l'acide chlorhydrique, soit de l'acide phosphorique.

Presque toutes les techniques ultérieures utilisent l'un de ces trois acides, objets des premiers essais.

Personnellement notre choix s'est porté sur l'acide sulfurique, en application d'une méthode adaptée par BRACHET (6) au micro-dosage des acides pentosenucléiques.

Nous avons aussi cherché à comparer l'action de ce réactif et celle de l'acide chlorhydrique.

Mais l'influence considérable de la teneur en acide nécessite une étude parallèle des deux facteurs indissociables : nature et concentration.

\* \*

Avant d'aborder l'exposé détaillé de la partie expérimentale de notre travail, il nous en faut indiquer les lignes générales, pour permettre l'intelligence des essais relatés.

La technique déjà citée de BRACHET (6) utilisée par MENKES (41) dans son étude de la « Pentolyse », devait logiquement servir de base à nos recherches. Son principe est le suivant :

---

(\*) Nous aurons l'occasion de revenir plus loin (voir p. 49) sur l'emploi d'un acide organique : l'acide acétique qui, associé à l'aniline, constitue un réactif convenant simultanément à la formation du furfural, puis à sa combinaison avec l'amine aromatique.

Ce procédé ne permet pas seulement la caractérisation qualitative des pentoses. Il est à la base d'une technique de dosage, celle de ROE et RICE (48). On soulignera toutefois combien les modalités de chauffage (10 minutes au B.-M. à + 70°C) et la faible acidité du milieu (malgré la concentration de 83 % en  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) retentissent sur le rendement, qui n'atteint que 9 % de la production théorique d'aldéhyde furfurylique.

Le furfural, issu de l'action de l'acide sulfurique, à la température d'ébullition, sur un pentose, est isolé du milieu au fur et à mesure de sa formation par entraînement dans un courant de vapeur d'eau ; l'addition d'acétate d'aniline à une partie aliquote du distillat produit une coloration rouge, dont l'intensité est mesurée à l'électrophotomètre.

On notera seulement ici qu'en définitive la transformation des pentoses est appréciée par cette détermination colorimétrique.

### Concentration de l'acide.

Nous distinguerons les résultats obtenus selon la nature de l'acide employé :

#### 1. Acide sulfurique.

L'emploi d'une solution aqueuse sulfurique à 35 p. 100, en volumes, additionnée de 8 g. p. 100 ml. de sulfate de zinc, ainsi que l'indique MENKES, produisant une transformation médiocre de l'arabinose en furfural, nous avons cherché à améliorer le rendement de la réaction, par l'accroissement de la concentration acide.

EXPÉRIENCES N<sup>os</sup> 22 et 24 /510202 et 05, et N<sup>o</sup> 31 /510303.

Des quantités identiques d'arabinose (0,002 g.), en solution aqueuse et sous volume constant (0,2 ml.), sont additionnées d'un même volume (10 ml.) de solutions sulfuriques de sulfate de zinc à diverses concentrations. (La solubilité différente du sulfate de zinc dans ces conditions oblige à faire varier simultanément le titre de l'acide et celui du sel).

On entraîne à la vapeur d'eau en recueillant dans chaque cas 100 ml.

Sur 5 ml. de chaque distillat homogénéisé, on effectue la détermination du furfural produit par addition d'acide acétique (4 ml.) et d'aniline (0,5 ml.).

L'intensité de la coloration rose obtenue est lue à l'électrophotomètre de MEUNIER, sous écran Bleu 47, après 25 minutes.

On pratique un témoin « à blanc » avec 5 ml. d'eau distillée, et les mêmes quantités de réactifs. La valeur du témoin est soustraite de tous les autres chiffres pour obtenir l'opacité « tare déduite ».

Concentration du  
réactif en acide et  
en sel exprimée en

|                                                 |     |     |     |      |      |      |     |      |
|-------------------------------------------------|-----|-----|-----|------|------|------|-----|------|
| ml. $\text{SO}_4\text{H}_2$                     | 35  | 40  | 45  | 50   | 60   | 70   | 80  | 90   |
| g. $\text{SO}_4\text{Zn}, 7 \text{H}_2\text{O}$ | 8   | 7   | 5,5 | 3    | 3    | 3    | 3   | 3    |
| p. 100 ml. de solut.                            |     |     |     |      |      |      |     |      |
| Opacité T. D.                                   | 33  | 35  | 42  | 68   | 150  | 249  | 262 | 208  |
| Rendement p. 100<br>de la quantité<br>théorique | 7,1 | 7,6 | 9,1 | 14,8 | 32,6 | 54,2 | 57  | 45,3 |

En dépit d'une imbrication de l'influence des concentrations en sulfate de zinc et en acide sulfurique, il est évident que l'élévation du titre en  $\text{SO}_4\text{H}_2$ , favorisant la déshydratation de l'arabinose, accroît le rendement de la transformation.

Le maximum de 57 p. 100 de la quantité théorique est atteint pour une teneur en  $\text{SO}_4\text{H}_2$  de 80 p. 100 en volumes, chiffre que nous avons retenu pour la préparation de ce réactif. Une concentration supérieure (90 p. 100) amène vraisemblablement une destruction partielle soit du pentose, soit du furfural produit, qui explique la chute du rendement.

## 2. Acide chlorhydrique.

La concentration la plus fréquemment indiquée par les auteurs est celle de 12 p. 100. Nous l'avons choisie pour nos essais, en préparant également des solutions titrées — par acidimétrie — à 5 g. et 43 g. d'acide chlorhydrique gazeux pour 100 ml. de solution.

EXPÉRIENCES N° 46 /510430 et N° 87 /520329.

On traite par une même quantité (10 ml.) de solutions chlorhydriques à diverses concentrations, des prises d'essai équivalentes d'arabinose (0,002 g.) en solution aqueuse au 1/100.

Après entraînement à la vapeur (volume recueilli = 100 ml.), on effectue sur 5 ml. de chaque distillat le dosage colorimétrique du furfural, comme il est indiqué précédemment pour les expériences portant sur l'acide sulfurique.

Chaque résultat correspond à la moyenne de deux essais identiques :

|                             |   |    |    |
|-----------------------------|---|----|----|
| Concentration chlorhydrique |   |    |    |
| en g. HCl gazeux            | 5 | 12 | 43 |
| pour 100 ml. de solution    |   |    |    |
| O. T. D.                    | 0 | 0  | 21 |

Dans les conditions opératoires décrites, l'acide chlorhydrique, aux concentrations de 5 et 12 p. 100, ne produit pas de transformation appréciable de l'arabinose en furfural.

A la teneur maximum de 43 p. 100 (celle de la solution officinale employée), la déshydratation du pentose est minime : l'action de l'acide chlorhydrique à ce titre se révèle environ 10 fois moindre que celle de l'acide sulfurique à 80 p. 100 (contrôlée dans une expérience parallèle).

En conséquence nous avons conservé l'acide sulfurique, plus efficace.

L'acidité est donc un facteur prépondérant de la transformation des pentoses en furfural. La concentration acide conditionne directement le rendement, qu'influencent largement d'autre part les modalités de chauffage.

Les techniques diffèrent assez peu dans le choix du réactif déshydratant : acide sulfurique (55) — à 32 p. 100 (26) — à 35 p. 100 (6), acide chlorhydrique de densité 1,06 (54) — à 12 p. 100 (1, 25, 28, 30) — à 13 p. 100 (47), acide phosphorique concentré (59) — à 85 p. 100 (8, 19, 23).

## INFLUENCE DU CHAUFFAGE

Il convient d'examiner deux points : — la durée du chauffage — la température atteinte.

### Temps de chauffage.

EXPÉRIENCE N° 52 /510613.

Des quantités égales d'arabinose (0,001 g., en solution aqueuse à 1 p. 100) sont additionnées de 10 ml. d'acide sulfurique à 80 p. 100 (préalablement porté à la température du B.-M. bouillant). Les tubes sont eux-mêmes placés au B. M. bouillant pendant des temps croissants exactement mesurés. Le chauffage est stoppé en plongeant les tubes dans la glace fondante.

Le contenu de chaque tube, transvasé dans la fiole c de l'appareil à entraînement décrit p. 30, est dilué par 40 ml. d'eau distillée. A la concentration ainsi réalisée de 16 p. 100, on estime que l'acide sulfurique interviendra peu au cours du chauffage ultérieur. Le furfural est entraîné quantitativement à la vapeur d'eau et dosé colorimétriquement.

La quantité d'arabinose transformé dépend donc uniquement des conditions du chauffage initial.

Temps de chauffage au B. M.  
bouillant, avec  $\text{SO}_4\text{H}_2$  à

|                                              |      |      |      |      |
|----------------------------------------------|------|------|------|------|
| 80 p. 100, en secondes                       | 30   | 60   | 120  | 300  |
| O. T. D.                                     | 25   | 90   | 133  | 135  |
| Rendement p. 100 de<br>la quantité théorique | 10,6 | 38,2 | 56,5 | 57,4 |

La quantité de furfural produite est donc fonction de la durée du chauffage en présence du réactif « déshydratant », dans la mesure où l'action trop prolongée d'un acide très concentré n'amène pas des pertes par destruction.

### Température atteinte.

On conçoit de même que la température conditionne le rendement de la réaction.

Mais ici intervient le mode opératoire suivi. Avec l'appareil utilisé, le mélange réactionnel, chauffé indirectement par l'eau en ébullition du générateur de vapeur, ne pouvait être porté à une température supérieure à 100°.

Le chauffage autonome du pentose en présence de son déshydratant assure habituellement des températures plus hautes, comme celles de 110° ou de 170° fixées respectivement par ADAMS et CASTAGNE (1) et DUNSTAN et GILLAM (19).

A cette question se rattache normalement celle des adjuvants éventuels de la réaction.

### INFLUENCE DES SELS MINÉRAUX

L'addition de sels minéraux aux solutions acides vise en effet à élever le point d'ébullition des mélanges : ainsi le sulfate de zinc pour l'acide sulfurique et le chlorure de sodium en solution chlorhydrique saturée.

Ce procédé ne pouvait évidemment avoir d'effet avec notre dispositif de distillation à la vapeur ; c'est ce que vérifie l'expérience suivante :

EXPÉRIENCES N° 39 /510404 et N° 40 /510409.

Des prises d'essai de 0,002 g. d'arabinose sont traitées par 10 ml. de solutions sulfuriques au titre constant de 80 p. 100, mais contenant en suspension des quantités croissantes de sulfate de zinc.

Teneur du réactif en g.

|                                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| SO <sub>4</sub> Zn, 7 H <sub>2</sub> O p. 100 | 0   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  |
| O. T. D.                                      | 227 | 226 | 204 | 214 | 225 | 224 | 212 | 224 | 223 |

L'acide sulfurique à 80 p. 100 exempt de sulfate de zinc convenait donc tout aussi bien (\*). C'est ce réactif que nous avons adopté par la suite, évitant du même coup l'inconvénient possible d'une suspension imparfaitement homogène.

---

(\*) Nous avons constaté de façon identique qu'avec une solution d'acide chlorhydrique à 12 p. 100 saturée de chlorure de sodium, la transformation de l'arabinose en furfural n'était pas supérieure à celle produite par la solution chlorhydrique pure, à la même concentration d'acide.

## INFLUENCE DU MODE OPÉRATOIRE

### Le principe.

Au procédé initial de simple distillation s'est peu à peu substitué l'entraînement à la vapeur d'eau. Bien que notre technique ait recours à ce dernier protocole, nous avons étudié les effets du chauffage direct d'un pentose en milieu acide.

#### 1. Distillation directe.

EXPÉRIENCES N° 45 /510425 et N° 47 /510502.

Deux prises d'essai semblables (0,002 g. d'arabinose, en solution aqueuse à 1 p. 100) sont additionnées, l'une de 10 ml. d'acide sulfurique à 35 p. 100, l'autre de 10 ml. d'acide sulfurique à 80 p. 100 en volumes.

Dans chaque cas, on chauffe directement dans un petit ballon dont la tubulure latérale est munie d'un manchon réfrigérant. Le distillat recueilli en 20 minutes environ est dilué, à l'aide d'eau distillée, au volume de 100 ml. (choisi pour les expériences d'entraînement à la vapeur).

Sur 5 ml. de dilution, on pratique le dosage colorimétrique du furfural produit.

|                                                                       | <i>Essai n° I</i> | <i>Essai n° II</i>  |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------|
| Concentration pour 100 ml. de réactif                                 |                   |                     |
| en ml. $\text{SO}_4\text{H}_2$                                        | 35                | 80                  |
| en g. $\text{SO}_4\text{Zn}, 7 \text{H}_2\text{O}$                    | 8                 | 3                   |
| Volume du distillat recueilli en 20 min.<br>(dilué ensuite à 100 ml.) | 5 ml.             | quelques<br>gouttes |
| O. T. D.                                                              | 259               | 0                   |
| Rendement p. 100 de la quantité théorique                             | 56,4              | 0                   |

Dans l'essai n° 1, on observe que l'ébullition amène un léger jaunissement du mélange. Le liquide distillant après 20 minutes ne produit plus qu'une très faible coloration rose en présence d'acétate d'aniline, tandis que le résidu de distillation, neutralisé par la soude, ne réduit pas la liqueur de FEHLING, (il ne subsiste donc pas d'arabinose non transformé).

[Une expérience semblable, mais au cours de laquelle nous avons recueilli séparément différentes fractions du distillat, nous a permis d'établir que la plus grande partie du furfural passait rapidement à la distillation : plus de

80 p. 100 de l'aldéhyde formé se retrouvant dans les trois premiers ml. recueillis.

Dans l'essai n° 2, la concentration sulfurique élevée entraîne une destruction de la matière organique, ainsi qu'en témoigne le brunissement important et immédiat du mélange, dès le début du chauffage.

BERTHELOT et ANDRÉ (4) signalaient déjà l'obtention d'une « matière noire » sans production de furfural, si l'on opérait en tubes scellés.

On pourrait conclure de ces expériences, qu'à teneur sulfurique égale de 35 p. 100, la simple distillation assure un rendement supérieur à celui obtenu par entraînement à la vapeur. Ceci tient sans doute à ce que le chauffage direct amène une concentration progressive du réactif sulfurique. Encore faut-il tenir compte de la façon dont est entraîné le furfural produit.

## 2. *Entraînement par la vapeur d'eau.*

KLINE et ACREE (30) estimaient que la distillation dans un courant de vapeur à 108° ne donne pas un meilleur rendement en furfural, à partir de xylose, que la méthode par simple distillation. Néanmoins, reprenant plus tard cette étude, HUGHES et ACREE (25) cherchaient à améliorer la réaction par des modifications techniques :

le risque d'une surchauffe locale, et partant de la polymérisation du furfural, était éliminé par chauffage du ballon à la vapeur sous pression à 115°, les auteurs préconisant par ailleurs d'accélérer la distillation par un entraînement à la vapeur, pour éviter toute décomposition de l'aldéhyde furfurylique.

Aussi bien de nombreux chimistes ont-ils adopté ce principe, encore que ses avantages, du strict point de vue du rendement, ne soit pas considérables, s'il faut en croire ADAMS et CASTAGNE (1).

Nous avons nous-même utilisé l'entraînement à la vapeur d'eau, à l'aide du dispositif que nous décrivons plus loin.

L'étude cinétique de la distillation du furfural montre bien la rapidité avec laquelle l'aldéhyde est entraîné :

### EXPÉRIENCE N° 54 /510616.

Une quantité déterminée de furfural (0,55 ml. d'une solution aqueuse à 1 p. 1000 en volumes) est entraînée à la vapeur d'eau,

en présence de 10 ml. d'acide sulfurique à 80 p. 100, pour réaliser les conditions expérimentales habituelles.

On recueille le distillat en 4 fractions successives de 25 ml. On pratique sur 5 ml. de chacune d'elles la colorimétrie classique.

| Fractions de 25 ml. n°                            | 1    | 2    | 3     | 4     |
|---------------------------------------------------|------|------|-------|-------|
| Durée de la distillation<br>(20 minutes au total) | 0-5  | 5-10 | 10-15 | 15-20 |
| O. T. D.                                          | 503° | 6    | 6     | 3     |
| % du furfural total                               | 97,1 | 1,1  | 1,1   | 0,5   |

3. On pourrait enfin chercher dans *l'entraînement par un gaz inerte* (azote par exemple) une solution au problème assurant tout à la fois l'isolement rapide du furfural, en évitant une dilution du mélange réactionnel.

#### Conditions techniques de l'entraînement à la vapeur.

Ayant adopté le principe de l'entraînement à la vapeur d'eau, il nous faut maintenant envisager sa réalisation du point de vue de l'appareillage utilisé.

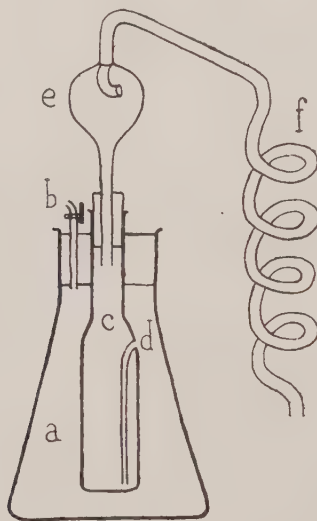
Des règles générales, permettant de réunir les conditions les plus favorables, ont été formulées par HUGHES et ACRÉE (25). L'opération doit être conduite si possible dans un appareil entièrement en verre. On évitera l'emploi de bouchons de caoutchouc, en leur préférant des joints rodés. On veillera aussi à ne pas surchauffer la solution et à retenir les vapeurs de furfural par un condenseur, pour empêcher les pertes tant par polymérisation que par volatilisation.

Le dispositif décrit par BRACHET (6) comporte un générateur de vapeur d'eau indépendant de la fiole qui reçoit le matériel à analyser. Le double chauffage peut donc être réglé de telle sorte qu'il y ait concentration croissante du milieu réactionnel, et que l'acidité ainsi réalisée assure une déshydratation plus complète des pentoses.

Personnellement nous avons adapté au dosage des pentoses l'appareil de DUJARDIN-SALLERON, couramment utilisé pour la détermination de l'acidité volatile des vins, selon la technique de FERRE-ARCHINARD.

### 1. Description de l'appareil.

Le schéma ci-dessous rappellera les caractéristiques de ce dispositif très classique :



- a. Générateur de vapeur d'eau.
- b. Robinet d'évacuation de l'air et de la vapeur.
- c. Fiole recevant le mélange à analyser.
- d. Tube d'adduction de la vapeur d'eau.
- e. Ampoule-condenseur.
- f. Serpentin de réfrigération.

Quatre montages identiques sont placés côte à côte sur un support, qui forme en même temps une enceinte pour l'eau de réfrigération des serpentins. Le chauffage est assuré par les flammes autonomes de quatre becs alimentés par une rampe à gaz.

### 2. Justification de l'emploi de l'appareil de Ferré et Archinard.

Nous avons déjà signalé que l'adoption de ce dispositif impliquait celle d'une température de réaction de 100°. Par ailleurs il s'opère au fur et à mesure de la distillation une dilution légère mais inévitable du milieu réactionnel. Ceci explique que, pour obtenir un rendement satisfaisant

dans la transformation des pentoses en furfural, nous ayons dû choisir une concentration initiale de l'acide sulfurique bien supérieure à celle de 35 p. 100 indiquée par BRACHET.

Ces deux inconvénients ne motivaient pas toutefois l'abandon du procédé.

Les raisons qui nous ont fait utiliser l'appareil de FERRE-ARCHINARD sont d'abord celles de la simplicité et de la facilité d'exécution.

De manipulation commode, ce montage permet un entraînement rapide : une opération nécessitant une trentaine de minutes seulement. Mais surtout notre choix fut guidé par la possibilité d'une éventuelle réalisation en série : quatre distillations simultanées pouvant être conduites de façon parallèle.

Il restait dès lors à contrôler que l'emploi de cet appareil était pleinement compatible avec nos autres conditions opératoires, c'est-à-dire essentiellement à vérifier qu'il assurait bien un entraînement quantitatif du furfural. Deux essais ont été pratiqués :

EXPÉRIENCE N° 29 /510213.

Des quantités croissantes de furfural (0,00055—0,00110—0,00165 — 0,00220 ml.) en solution aqueuse et sous volume constant, sont entraînées en présence de 10 ml. de solution sulfurique à 50 p. 100 (contenant 3 g. p. 100 de sulfate de zinc). On recueille chaque fois 100 ml. de distillat.

D'autre part ces mêmes quantités sont diluées par de l'eau distillée au volume identique de 100 ml.

Sur 5 ml. de chaque distillat ou dilution, on pratique la réaction à l'acétate d'aniline.

| <i>Essais n°</i>                       | 1   | 2   | 3   | 4   |
|----------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| O. T. D. des distillats                | 244 | 374 | 444 | 477 |
| O. T. D. des dilutions correspondantes | 237 | 371 | 443 | 481 |

Des résultats semblables étaient obtenus dans les conditions définitivement arrêtées pour la méthode :

EXPÉRIENCE N° 54 /510616.

On opère sur des prises d'essai de 0,00064 g. de furfural en solution aqueuse diluée (ce qui correspond à la quantité d'aldéhyde produite par la transformation théorique de 0,001 g. d'arabinose).

On entraîne à la vapeur d'eau en présence de 10 ml. d'acide sulfurique à 80 p. 100 en recueillant dans un cas 50 ml., dans l'autre 100 ml.

Des quantités identiques de furfural sont diluées dans l'eau distillée aux volumes respectifs de 50 et 100 ml.

On mesure la coloration développée par 5 ml. de chaque essai.

|          | <i>Distillats</i> |             | <i>Dilutions</i> |             |
|----------|-------------------|-------------|------------------|-------------|
|          | <i>n° 1</i>       | <i>n° 2</i> | <i>n° 1</i>      | <i>n° 2</i> |
| O. T. D. | 370               | 224         | 362              | 222         |

Le choix d'un tel dispositif est donc valable : le furfural entraîné étant intégralement retrouvé. On remarquera d'autre part la résistance de l'aldéhyde, nullement altéré par le contact de l'acide sulfurique très concentré, notion sur laquelle nous reviendrons lors de la discussion du rendement de la transformation.

## CONCLUSION

L'étude de la transformation des pentoses en furfural nous a permis de définir une technique de dosage fondée sur la déshydratation au moyen de l'acide sulfurique à 80 p. 100 et l'isolement de l'aldéhyde produit, dans un appareil à entraînement par la vapeur d'eau de type classique.

Les conditions précises de son exécution seront fixées lors de l'exposé d'ensemble de la méthode, une fois mise au point l'évaluation du furfural qui en constitue le second temps.

---

## CHAPITRE II

---

### LE DOSAGE DU FURFURAL

---

#### A) Généralités – Les méthodes utilisées

Douée d'une assez grande réactivité de par sa fonction aldéhydique, la molécule de furfural est capable de former des produits de condensation, en particulier avec des phénols et des amines aromatiques. Cette propriété est mise à profit dans de nombreuses méthodes pondérales, volumétriques ou colorimétriques.

Par ailleurs les techniques volumétriques recourent volontiers à l'halogénéation de l'aldéhyde furfurylique.

Avant d'aborder l'étude de la réaction à l'acétate d'aniline, que nous avons utilisée, il nous faut rappeler brièvement le principe des autres moyens de détermination.

#### DOSAGES GRAVIMÉTRIQUES

L'action de l'**ammoniaque** amène la formation d'une furfuramide, que l'on peut recueillir et peser (55).

Par chauffage avec la **phénylhydrazine** en solution acétique (4, 57), on obtient une hydrazone, dont la précipitation est susceptible d'une appréciation gravimétrique.

La concentration du furfural avec le **phloroglucinol**, si elle peut se prêter à une détermination colorimétrique (59),

donne lieu le plus souvent à un dosage pondéral (14, 20, 28).

Enfin la précipitation par les **acides barbiturique** ou **thio-barbiturique** permet l'évaluation de l'aldéhyde furfurylique, comme celle de ses proches dérivés : le méthyl-et l'oxy-méthyl-furfural (9, 15, 28, 33).

## DOSAGES VOLUMÉTRIQUES

Signalons l'utilisation possible de la réaction avec la **phénylhydrazine** : après précipitation de l'hydrazone, on apprécie dans le filtrat l'excès du réactif par la réduction de la liqueur de FEHLING (54). On peut aussi doser par une solution d'iode la phénylhydrazine non consommée (34).

Le traitement par le **brome** naissant, au moyen d'un mélange de bromure et bromate, suivi par la détermination classique du brome en excès, a fait l'objet de nombreuses applications (14, 24, 27, 28, 30, 45, 46). Au terme de discussions contradictoires, on peut admettre, semble-t-il, qu'une molécule de furfural exige quatre (plutôt que deux) atomes d'halogène. Les résultats de la méthode au brome, souvent exécutée au titre de référence, sont superposables à ceux fournis par la réaction colorée à l'acétate d'aniline (HUGHES, ACREE).

Une technique voisine emploie comme réactif d'halogénéation la **chloramine T** en présence d'iodure de potassium et de lessive de soude. L'iode libéré par l'excès du dérivé chloré est titré par l'hyposulfite de soude, après passage en milieu chlorhydrique (5).

Le furfural forme avec les **bisulfites alcalins** des composés d'addition, propriété appliquée depuis longtemps à son dosage (29), et récemment adaptée à la micro-détermination des pentoses : le bisulfite en excès est oxydé par l'iode, puis, après décomposition du produit d'addition par le bicarbonate de soude, on effectue le titrage iodométrique du bisulfite libéré (23).

## DOSAGES COLORIMÉTRIQUES

A côté du **phloroglucinol** (59) et de l'**acétone** (dont le produit de condensation en milieu sulfurique est coloré en

rouge), deux réactions ont été particulièrement expérimentées :

— Celle à l'**acétate d'aniline**, que nous exposerons plus loin.

— Et celle à l'**orcine**, couramment désignée sous le nom de réaction de **BIAL** pour la caractérisation des pentoses : la coloration verte développée par le furfural en présence d'orcinol, d'acide chlorhydrique et de perchlorure de fer, peut en effet servir à sa détermination (21, 35). Mais d'autres auteurs, et notamment **MEYBAUM**, ont cherché à en tirer une technique valable pour l'estimation des pentoses eux-mêmes (7, 10, 36, 37).

Enfin, on peut pratiquer un dosage sélectif de l'aldéhyde furfurylique coexistant avec d'autres aldéhydes tels que le formaldéhyde, en mesurant la coloration produite par addition de **réactif de SCHIFF** dans des conditions précises de pH (61).

## DOSAGES SPECTROPHOTOMÉTRIQUES

Parmi ces méthodes récentes, citons celle de **DUNSTAN** et **GILLAM** (19), qui met à profit l'absorption réalisée au maximum à 278,5 m $\mu$  par les solutions aqueuses de furfural, l'intensité de l'absorption étant fonction de la concentration en aldéhyde.

### B) La réaction colorée du furfural et de l'acétate d'aniline

#### HISTORIQUE

On qualifie parfois encore de réaction de **TOLLENS** ce mode de caractérisation des pentoses. Car dès l'origine le développement d'une coloration rouge en présence d'acétate d'aniline servit à mettre en évidence le furfural produit.

L'absence de coloration dans les dernières fractions des distillats indiquait au contraire que la transformation du pentose et l'isolement de l'aldéhyde étaient achevés.

Par ailleurs DE CHALMOT proposait peu après une première application au dosage colorimétrique (11). De nombreux auteurs devaient par la suite tirer profit de cette même réaction.

## DESCRIPTION DE LA RÉACTION

Si l'on ajoute à une solution aqueuse très diluée de furfural (5 ml. par exemple d'une solution à 1 p. 50.000 en volumes) des quantités convenables d'acide acétique et d'aniline (soit respectivement 4 ml. et 0,5 ml.), on observe la production d'une coloration rose bien caractéristique.

Son intensité s'accroît rapidement pendant une vingtaine de minutes, pour atteindre un maximum à partir duquel elle diminue lentement, puis s'annule enfin après quelques heures, faisant place à une teinte jaunâtre.

Nous avons déjà défini la réaction chimique qui s'opère comme une condensation réalisée avec la molécule aminée au moyen du chaînon aldéhydique.

Il est connu que le furfural réagit selon des mécanismes différents, suivant qu'il se trouve en présence de la base aromatique libre ou à l'état salifié.

## MODALITÉS DE LA RÉACTION

Il nous faut avant tout fixer de façon précise les conditions d'appréciation de la réaction colorée.

Nous étudierons ensuite l'influence de différents facteurs, tant sur l'intensité de la coloration, que sur son développement envisagé du point de vue cinétique.

### Mesure électrophotométrique de la réaction.

Toutes nos déterminations sont pratiquées à l'aide d'un électrophotomètre de P. MEUNIER.

Les lectures sont faites en cuve à faces parallèles de 10 mm. d'épaisseur, sous écran Bleu 47, correspondant à une longueur d'onde d'environ 470 m $\mu$  et choisi pour les raisons exposées plus loin.

Il n'est pas inutile de préciser que, pour effectuer des mesures de façon rigoureusement identique, nous respec-

tons un certain nombre de conditions relatives : — à l'emplacement des cuves (le plus près possible de la cellule réceptrice) — à l'ouverture du diaphragme côté cuve (jusqu'au diamètre 10 mm., cette fixité assure une sensibilité constante) — à l'établissement du zéro de l'appareil (pratique sur une cuve remplie d'eau distillée).

Les opacités lues sont mesurées en unités arbitraires (divisions du tambour de l'appareil).

Enfin, lors de chaque détermination, un essai à blanc des réactifs est mené parallèlement, et sa valeur soustraite de celle des autres chiffres : l'opacité de la réaction proprement dite s'énonce alors déduction faite de la tare (O.T.D.).

### **Facteurs influençant l'intensité de la réaction et sa cinétique.**

La simple observation d'un mélange de furfural en solution aqueuse, d'acide acétique et d'aniline, montre que la réaction colorée suit une évolution rapide que nous avons déjà décrite.

Il importe donc de fixer la durée du développement de la coloration, par le temps au bout duquel on en pratique la mesure.

Or les différents facteurs capables de modifier l'intensité de la coloration sont en même temps susceptibles d'intervenir sur la cinétique de la réaction.

Il en résulte la nécessité d'examiner de ce double point de vue : — valeur du maximum d'absorption du mélange, — durée d'obtention de ce maximum, l'influence de facteurs

#### *extrinsèques :*

— longueur d'onde utilisée pour la mesure de l'opacité,

— température de développement de la coloration,

#### *intrinsèques :*

— teneur du mélange en furfural,

— concentration du milieu en réactifs : acide acétique et aniline,

— présence d'agents stabilisants.

### **1. Longueur d'onde.**

Pour la détermination colorimétrique, chaque technique définit une longueur d'onde précise. C'est ainsi qu'ADAMS et CASTAGNE (1) situent le maximum d'absorption à 518 m $\mu$ , pour une réaction effectuée en présence de chlorure de



Le maximum de coloration se produit dans tous les cas entre la 20<sup>e</sup> et la 30<sup>e</sup> minute. Le choix de telle ou telle longueur d'onde n'entraîne donc pas de variation sensible du temps au bout duquel l'opacité maximum est obtenue.

A titre d'exemple, voici les valeurs de l'opacité, en fonction du temps, d'un mélange correspondant à une concentration finale en furfural de 1 p. 950.000 en volumes, à une température moyenne de 21°, sous écran Bleu 47 :

| <i>Temps en minutes<br/>à partir de l'addition d'aniline</i> | <i>Opacités</i> |
|--------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1                                                            | 21              |
| 2                                                            | 33              |
| 3                                                            | 42              |
| 4                                                            | 52              |
| 5                                                            | 62              |
| 7                                                            | 75              |
| 9                                                            | 88              |
| 12                                                           | 103             |
| 15                                                           | 115             |
| 20                                                           | 126             |
| 25                                                           | 130             |
| 30                                                           | 127             |
| 35                                                           | 122             |
| 40                                                           | 113             |
| 45                                                           | 106             |

## 2. Température.

EXPÉRIENCES N° 16 à 18 /51011223.

On observe le développement de la coloration, en fonction du temps, de trois mélanges à concentration identique de furfural, sous écran Bleu 47. Le premier est maintenu à la température du laboratoire. Dans les deux autres, la solution de furfural est préalablement portée à des températures différentes par chauffage au B.-M.

| <i>Temps en minutes</i> | <i>Opacités</i><br>(Températures avant l'addition d'aniline) |            |            |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------|------------|------------|
|                         | <b>19°</b>                                                   | <b>36°</b> | <b>51°</b> |
| 1                       | —                                                            | 31         | 48         |
| 2                       | —                                                            | 41         | 60         |
| 3                       | —                                                            | 50         | 69         |
| 4                       | —                                                            | 57         | 78         |
| 5                       | —                                                            | 63         | 84         |
| 7                       | —                                                            | 73         | 95         |
| 9                       | —                                                            | 82         | 103        |
| 12                      | —                                                            | 90         | 109        |
| 15                      | 88                                                           | 99         | 111        |
| 20                      | 101                                                          | 106        | 111        |
| 25                      | 109                                                          | 110        | 109        |
| 30                      | 112                                                          | 111        | 106        |
| 35                      | 112                                                          | 111        | 103        |
| 40                      | —                                                            | 109        | 100        |

Le maximum, identique dans les trois cas, est atteint plus ou moins précocement. L'élévation de température du mélange accélère donc le développement de la coloration, sans retentir sur son intensité maximum.

En pratique on pourra déterminer cette intensité — dans les limites de températures d'expérience comprises entre 15° et 30° — par lecture entre la 20° et la 30° minute.

### 3. Concentration en furfural.

#### 1. Du point de vue de la cinétique.

EXPÉRIENCES N<sup>os</sup> 9, 10, 12 et 15 /51011223.

On mesure sous écran Bleu 47, à température comparable (21°), la coloration produite par des solutions aqueuses de furfural de titres différents.

| Temps en minutes | Opacités des solutions |                |
|------------------|------------------------|----------------|
|                  | à 1 p. 50.000          | à 1 p. 500.000 |
| 12               | 465                    | 103            |
| 15               | 484                    | 115            |
| 20               | 505                    | 126            |
| 25               | 505                    | 130            |
| 30               | 505                    | 127            |

Le maximum d'absorption est atteint dans chaque cas au bout du même temps.

(On arrive à des constatations identiques, en pratiquant les lectures sous écran Vert 52).

La concentration du mélange en furfural, si elle conditionne l'intensité de la coloration, n'influence donc pas la cinétique de la réaction.

#### 2. Du point de vue de l'intensité.

EXPÉRIENCE N<sup>o</sup> 85 /520328.

Des quantités croissantes de furfural, en solution aqueuse diluée et sous volume constant (5 ml.), sont additionnées d'acide acétique (4 ml.) et d'aniline (0,5 ml.).

L'intensité des colorations est mesurée après 20 minutes sous écran Bleu 47.

| Furfural en ml.<br>dans la prise d'essai | 0,00001 | 0,00002 | 0,00003 | 0,00004 | 0,00005 |
|------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| O. T. D.                                 | 70      | 156     | 231     | 300     | 370     |

La réaction du furfural à l'acétate d'aniline obéit à la loi de BEER-LAMBERT :

L'intensité de la coloration est linéairement proportionnelle aux quantités d'aldéhyde furfurylique mises en jeu.

#### 4. Concentration des réactifs.

##### 1. Acide acétique.

L'acidité du milieu conditionne la réaction. HUGHES et ACREE (25) indiquent pour le développement de la coloration le pH optimum de 3. Ces auteurs, ainsi que YOUNGBURG et PUCHER (63), préconisent même — lorsqu'il s'agit de doser le furfural issu de la transformation des pentoses — d'opérer sur une portion de distillat neutralisée par la soude en présence de phénol-phtaléine.

Nous avons pour notre part procédé aux essais suivants :

EXPÉRIENCE N° 58 /510621.

On constitue une gamme de mélanges renfermant une même quantité de furfural, sous un volume final identique de 9,5 ml. (réactifs compris), l'aniline étant présente chaque fois à la dose de 0,5 ml., tandis que les additions d'acide acétique varient de 1 à 8 ml.

On mesure l'opacité après 25 minutes, sous écran Bleu 47 (en déduisant celle d'essais à blanc correspondants).

|                          |    |     |     |     |     |     |     |     |
|--------------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Acide acétique<br>en ml. | 1  | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   |
| O. T. D.                 | 35 | 104 | 149 | 183 | 192 | 197 | 203 | 212 |

Ces lectures expriment l'absorption maximum pour chaque essai et montrent que les variations de la concentration acétique n'influencent pas la cinétique de la réaction.

Par contre, l'intensité de la coloration croît avec la teneur en acide. L'augmentation, importante au début, devient ensuite moins sensible.

On s'arrête au chiffre de 4 ml. d'acide acétique, déterminant, par rapport à la dose immédiatement inférieure de 3 ml., un accroissement d'opacité de 22 p. 100 — tandis qu'à la concentration maximum de 8 ml., le gain n'est que de 15 p. 100 sur l'absorption du mélange au titre choisi.

##### 2. Aniline.

EXPÉRIENCE N° 55 /510619.

Dans cet essai, calqué sur le précédent, ce sont cette fois les quantités d'aniline qui varient de 0,1 à 1 ml., l'acide acétique étant présent au taux fixe de 4 ml.

|                                   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |   |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| Aniline en ml.                    | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1 |
| O. T. D. Bleu 47<br>après 25 min. | 5   | 52  | 137 | 183 | 178 | 136 | 94  | 43  | 20  | 6 |

L'intensité de la coloration croît avec la teneur en aniline, mais aux plus fortes concentrations (0,5 à 1 ml.) une vitesse de développement différente fausse l'interprétation des résultats (\*).

On pratique donc un essai, où l'on se préoccupe simultanément de l'influence sur la cinétique et sur l'intensité.

EXPÉRIENCE N° 56 /510619.

Deux mélanges de furfural (0,2 ml. de solution aqueuse à 1 p. 10.000) et d'acide acétique (4 ml.) reçoivent respectivement 0,5 et 1 ml. d'aniline, pour un même volume final de 9,5 ml. On mesure l'opacité en fonction du temps, sous écran Bleu 47.

| Temps en minutes | O. T. D.          |                 |
|------------------|-------------------|-----------------|
|                  | (Aniline 0,5 ml.) | (Aniline 1 ml.) |
| 1                |                   | 132             |
| 2                |                   | 179             |
| 3                |                   | 196             |
| 4                |                   | 198             |
| 5                |                   | 196             |
| 6                |                   | 189             |
| 7                |                   | 183             |
| 8                |                   | 175             |
| 9                |                   | 168             |
| 10               | 190               | 161             |
| 15               | 197               | 122             |
| 20               | 192               | 91              |
| 25               | 177               | 65              |

On confirme l'existence d'une concentration-seuil (0,5 ml.) déterminant un maximum d'opacité, et au-delà de laquelle l'augmentation du taux d'aniline accélère la vitesse de la réaction, mais sans modifier son intensité.

### 5. Agents stabilisateurs de la réaction.

L'évolution rapide de la réaction colorée a incité quelques auteurs à rechercher dans l'addition de certaines substances un facteur de stabilisation.

C'est ainsi que DUNCAN (18), étudiant les effets de l'acide sulfurique, du chlorure de zinc, du trichlorure d'aluminium, du chlorure de sodium, du phosphate disodique et de l'acide oxalique, a mis en évidence le rôle stabilisant de ces trois derniers corps sur le composé coloré furfural-aniline.

---

(\*) On notera qu'en fait les dernières mesures (correspondant aux concentrations de 0,5 à 1 ml. en aniline) ont été pratiquées au bout de 30 et même 40 minutes, ce qui explique le décalage de ces chiffres par rapport à ceux rapportés dans l'expérience suivante (n° 56).

Nous n'avons pas cru devoir utiliser ces adjuvants, car leur emploi ne présentait plus pour nous d'intérêt certain, une fois précisées les conditions assurant la mesure d'une absorption maximum.

Il faut enfin signaler l'intéressante particularité de la méthode de ROE et RICE (48). Leur technique, où la transformation en furfural et la condensation avec l'aniline s'effectuent en un seul temps, implique la réaction à chaud sur l'amine. Ce chauffage, s'il s'opère en présence de filtrats de tissus, fournit des produits d'oxydation de l'aniline, qui développent une coloration brune. C'est pourquoi les auteurs substituent à l'aniline son dérivé p-bromé plus résistant, en même temps qu'ils utilisent de l'acide acétique saturé de thio-urée comme anti-oxydant.

### CONCLUSION

L'étude de différents facteurs influençant la réaction colorée du furfural à l'acétate d'aniline nous a permis de fixer les modalités d'une technique de dosage :

Le furfural en solution aqueuse est additionné d'acide acétique (4 ml.) et d'aniline (0,5 ml.), ce qui pour un volume total de 9,5 ml. représente des concentrations finales de réactifs respectivement égales à 42 et 5,2 p. 100.

La coloration est mesurée à l'électrophotomètre de MEUNIER sous écran Bleu 47, 20 minutes après le mélange. Dans les conditions d'expérience (températures habituelles du laboratoire, longueur d'onde et concentrations choisies) on détermine ainsi l'absorption maximum.

---



## CHAPITRE III

---

# APPLICATION AU DOSAGE DES PENTOSES ÉTUDE DU RENDEMENT DE LA RÉACTION

---

### 1. — PRINCIPE

Transformation des pentoses en furfural que l'on dose ultérieurement par colorimétrie.

### 2. — RÉACTIFS

- (1) Solution aqueuse à 1 g. de pentose (xylose, ribose, arabinose) p. 100 ml., pour l'établissement de témoins (à préparer extemporanément).
- (2) Solution aqueuse d'acide sulfurique à 80 p. 100 en volumes.
- (3) Acide acétique cristallisable.
- (4) Aniline redistillée.

### 3. — MODE OPÉRATOIRE

— Additionner la solution à doser, renfermant une quantité de pentose comprise entre 0,5 et 2,5 mg. sous un volume de 0,1 ou 0,2 ml., de 1 ml. de réactif (2). L'intro-

duire dans l'ampoule centrale (c) de l'appareil à entraînement décrit page 30. Rincer à trois reprises avec chaque fois 3 ml. du réactif (2), utilisant au total 10 ml. de la solution sulfurique.

— Introduire 250 ml. d'eau environ dans le générateur (a). Chauffer : lorsque l'eau entre en ébullition, fermer le robinet d'évacuation (b), pour que la vapeur barbotte dans le mélange réactionnel.

Procéder à l'entraînement et recueillir dans un ballon jaugé 100 ml. exactement de distillat, ce qui requiert en moyenne une quinzaine de minutes.

— Prélever après homogénéisation 5 ml. de distillat. Y ajouter 4 ml. d'acide acétique et 0,5 ml. d'aniline. Mêler. Noter l'heure et conserver le mélange à la température ordinaire, à l'abri d'une lumière trop vive.

Mener parallèlement un essai à blanc sur 5 ml. d'eau distillée, en présence des mêmes quantités de réactifs.

— Au bout de vingt minutes exactement (\*), mesurer la coloration avec un photomètre précis, type électrophotomètre de P. MEUNIER, en cuve de 10 mm. d'épaisseur, et sous écran bleu permettant une absorption maximum au voisinage de 470 m $\mu$ .

Retrancher la valeur trouvée pour l'essai à blanc, pour obtenir l'opacité tare déduite.

#### 4. — RÉSULTATS

L'étalonnage est pratiqué à l'aide de la solution pure du pentose que l'on désire doser.

Une courbe, établissant le rapport des opacités lues aux quantités de glucide introduites, permet de calculer la teneur en pentose de la prise d'essai.

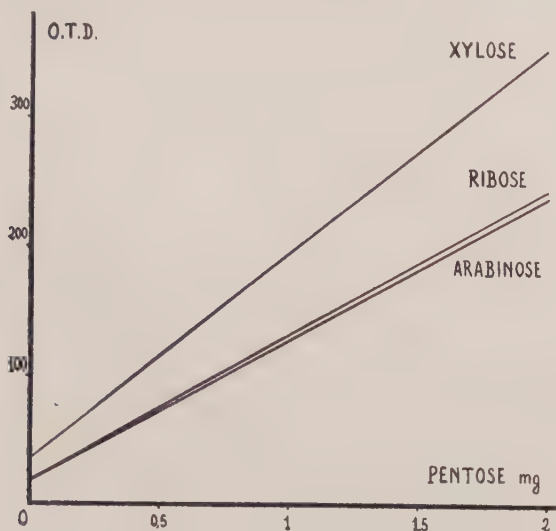
Nous avons utilisé trois sucres en C<sub>5</sub> : l'arabinose, le ribose, le xylose.

Les résultats de nos essais sont consignés dans le graphique ci-après, où les abscisses représentent en mg. les quantités des différents pentoses utilisés, et les ordonnées

---

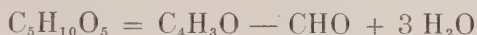
(\*) Si l'on exécute une série de réactions, observer, lors de l'addition d'aniline, un décalage régulier d'un tube à l'autre.

en unités arbitraires (divisions du tambour de l'appareil) les opacités.



#### Le rendement de la réaction.

Conformément à l'équation théorique :



la déshydratation de 150 g. de pentose fournit en principe 96 g. de furfural.

La comparaison des colorations obtenues, avec celles de réactions pratiquées directement sur des solutions de l'aldéhyde, permet le calcul du rendement.

Les premiers résultats rapportés par TOLLENS et DE CHALMOT (57) ne traduisaient pas une transformation théorique. Mais déjà ils faisaient état de l'obtention de pourcentages différents, selon qu'on s'adressait à tel ou tel pentose.

Plus tard KLINE et ACREE (30) déploraient que le rendement soit généralement bas et irrégulier.

Le point de vue actuel paraît résumé par ADAMS et CASTAGNE (1) : la transformation quantitative à partir de pentoses purs n'est acquise qu'au prix de méthodes pénibles et délicates. En pratique, l'observation de conditions strictes assure un rendement sensiblement constant, de l'ordre de 85 à 90 p. 100.

C'est un taux analogue de 88 p. 100, en ce qui concerne le xylose, qu'indique DOREE (14) d'après les tables de KROBER.

Nous avons retrouvé dans nos essais personnels la gradation communément signalée par les auteurs : la production de furfural à partir du xylose est nettement supérieure à celles obtenues à partir du ribose et de l'arabinose.

Pour l'arabinose, le rendement n'a été que de 64 p. 100, rapporté au xylose, chiffre qui concorde avec ceux de 64 et 67 p. 100 respectivement annoncés par HURD et ISENHOUR (26) d'une part et DUNSTAN et GILLAM (19) de l'autre.

Par contre, ces derniers auteurs fixent la réaction du ribose à 73 p. 100 de celle du xylose, alors que nous avons trouvé un taux de 67 p. 100. Cette différence tient sans doute à l'échantillon utilisé.

En définitive, le mode opératoire adopté, conduit pour le xylose, le ribose et l'arabinose, à des rendements respectifs de 88, 59 et 57 p. 100.

On peut dès lors se demander ce que devient la fraction non retrouvée.

Faut-il chercher à expliquer l'écart des résultats expérimentaux aux chiffres théoriques par une éventuelle décomposition du furfural ? Mais dans ce cas l'hypothèse ne rend pas compte des différences constatées d'un pentose à l'autre.

Et surtout nous avons déjà mis en évidence la résistance de l'aldéhyde, que n'altère pas la distillation en présence d'acide sulfurique à 80 p. 100. C'est sur la base d'une remarque semblable, que CAMPBELL et SMITH (9) attribuent le déficit à un mécanisme non élucidé, supposant « un remaniement de la structure intime de la molécule de sucre ».

---

## TITRE II

---

### Dosage des pentoses par réaction directe avec l'acétate d'aniline

---

Longtemps le biochimiste ne s'est préoccupé que de la recherche *qualitative* des pentoses urinaires.

Il était naturel, pour objectiver la présence de pentoses, de s'adresser à des réactions basées sur l'obtention transitoire de furfural.

Les méthodes au phloroglucinol et au naphtorésorcinol (TOLLENS), à l'orcine en présence de perchlorure de fer (BIAL) fournissent parmi beaucoup d'autres des exemples d'un tel mécanisme : l'ébullition en milieu chlorhydrique réalisant simultanément la transformation du pentose et la condensation avec les phénols de l'aldéhyde produit.

Par contre l'utilisation de la réaction à l'acétate d'aniline impliquait la possibilité d'obtenir du furfural sans l'intervention d'un acide minéral.

Contrairement à l'opinion couramment admise, que les acides organiques restent sans effet sur les glucides, WHITE et GREEN (62) montraient en 1932 que le chauffage d'une solution aqueuse d'arabinose avec de l'acide acétique, en présence de quelques gouttes d'aniline, détermine l'apparition d'une coloration rouge immédiate.

Ces auteurs en faisaient la base d'un « test à l'aniline » pour la caractérisation des pentoses.

En 1950, cherchant une technique satisfaisante pour l'examen d'extraits de fibres musculaires après traitement enzymatique, TRACEY (60) était amené à reprendre ce travail.

Apportant diverses modifications au procédé initial, notamment en opérant à la température ordinaire, il en tirait une méthode colorimétrique pour la détermination quantitative des pentoses, en présence des hexoses et des acides uroniques.

Nous avons à notre tour effectué l'étude de cette même réaction *directe* avec l'acétate d'aniline, pour mettre au point un protocole de dosage adapté à nos conditions de travail.

---

## CHAPITRE I

---

# ÉTUDE DE LA RÉACTION COLORÉE DIRECTE

---

### DESCRIPTION

L'addition à un pentose (2 ml. par exemple de solution aqueuse d'arabinose à 0,125 g. p. 1.000 ml.) d'acétate d'aniline (6 ml. d'un réactif préparé avec :

|                                    |        |
|------------------------------------|--------|
| Acide acétique cristallisable..... | 50 ml. |
| Eau distillée.....                 | 17 ml. |
| Aniline pure redistillée.....      | 8 ml.) |

ne donne lieu à aucune coloration immédiate.

Maintenu à l'obscurité et à la température du laboratoire, le mélange présente après quelques heures une coloration jaune brun, qui va en s'accroissant, atteignant son maximum dans le délai d'un jour environ. La teinte jaune demeure stable assez longtemps pour ne diminuer qu'au bout de quelques jours.

Plusieurs points méritent d'être soulignés :

— En premier lieu : le long délai nécessaire pour obtenir une coloration maximum, à la température ordinaire.

— D'autre part : la nuance de la teinte obtenue, sans rapport avec le rouge de la classique réaction du furfural à l'acétate d'aniline.

Ces faits suggèrent un mécanisme différent, dans lequel n'intervient pas la transformation préalable du pentose en aldéhyde furfurylique.

## MÉCANISME DE LA RÉACTION

TRACEY s'est efforcé de le démontrer en instituant plusieurs expériences :

1. Après chauffage à  $100^{\circ}$  d'un pentose avec de l'acide acétique, l'addition d'aniline détermine très rapidement une coloration saumon imputable au furfural et qui décroît au bout d'une heure environ.

Si le mélange est ensuite conservé plusieurs heures à la température ordinaire, la coloration jaune se développe normalement.

2. Si l'on maintient pendant 24 heures, à la température ordinaire, un mélange de pentose et d'acide acétique, et qu'on ajoute ensuite l'aniline, le développement de la coloration habituelle nécessite un nouveau délai.

Son intensité est égale à celle produite par une quantité identique de pentose traitée par le réactif complet à la même température et pendant le même temps.

3. En présence du réactif indiqué, 20  $\mu$ g. de furfural fournissent une coloration rose *immédiate*, dont le maximum d'absorption se situe aux environs de 518 m $\mu$ . La coloration, dont l'intensité diminue après 2 ou 3 heures, a disparu au bout de 24 heures.

À ces constatations expérimentales, viennent s'ajouter les considérations suivantes, purement hypothétiques, que nous extrayons de la publication de TRACEY :

« La coloration présentée par les pentoses paraît résulter d'une réaction à laquelle prennent part le pentose, l'oxygène et l'aniline en grand excès. Les proportions molaires approximatives de pentose, d'oxygène dissous et d'aniline dans le mélange final sont de : 1 — 14 — 20.000.

La nécessité d'un tel excès d'aniline s'explique peut-être par la formation d'un de ses produits d'oxydation, qui réagirait à l'état de traces avec le glucide ou un dérivé. La diminution de la quantité d'oxygène dissous réalisée dans des tubes de THUNBERG réduit en effet de façon importante l'intensité de la coloration. Mais il faut apparemment si peu d'oxygène que son accroissement, par aération continue durant le développement de la réaction, n'exerce qu'un faible effet. »

Il n'est pas besoin de souligner le caractère très vague de ces « explications ». Elucider le mécanisme de cette

réaction directe eût nécessité de notre part des démarches, qui débordaient trop le cadre fixé pour ce travail.

## ETUDE EXPÉRIMENTALE DE LA RÉACTION

### Conditions générales d'appréciation.

Les modalités d'ensemble, exposées à l'occasion de la détermination colorimétrique du furfural, ont été appliquées de la même façon à l'étude de la réaction directe des pentoses à l'acétate d'aniline.

En ce qui concerne l'emploi de l'électrophotomètre de MEUNIER, aucune des dispositions tenant : — à la dimension des cuves ( $e = 10$  mm.) — à leur emplacement sur le trajet lumineux — à l'ouverture du diaphragme côté cuve — à l'établissement du zéro de l'appareil sur une cuve remplie d'eau distillée, n'a été modifiée.

De même l'exécution d'un essai à blanc des réactifs a permis chaque fois d'obtenir la valeur de l'opacité « tare déduite », exprimée en unités arbitraires (graduations du tambour de l'appareil) et qui seule figure dans nos comptes-rendus d'expériences.

### Influence de différents facteurs.

Nous étudierons tour à tour l'influence exercée sur la réaction colorée par :

- la longueur d'onde utilisée pour la mesure de l'absorption,
- la durée de développement de la coloration,
- la température durant l'expérience,
- la lumière reçue par le mélange,
- la composition du réactif employé,
- la présence d'autres substances produisant elles-mêmes une coloration.

#### 1. Longueur d'onde.

EXPÉRIENCES N<sup>os</sup> 34 /510319 et 88 /520409.

On ajoute à 1 ml. d'une solution aqueuse d'arabinose à 0,125 g. p. 1000 ml., 3 ml. de réactif à l'acétate d'aniline (préparé extemporanément suivant la formule page 51).

On laisse le mélange 24 heures à l'obscurité et à la température ordinaire.

On mesure dans les différentes longueurs d'onde l'intensité de la coloration, ainsi que l'opacité d'un essai « à blanc » : mélange de 3 ml. de réactif et 1 ml. d'eau distillée, traité dans les mêmes conditions.

| <i>Ecrans</i> | <i>Opacités T. D.</i> |
|---------------|-----------------------|
| Bleu 43       | 132                   |
| Bleu 47       | 82                    |
| Vert 49       | 56                    |
| Vert 52       | 37                    |
| Jaune 57      | 16                    |
| Orange 60     | 11                    |
| Rouge 64      | 6                     |
| Rouge 70      | 1                     |

On retient donc pour les déterminations ultérieures l'écran Bleu. 43, correspondant à une longueur d'onde d'environ 430 m $\mu$ , où la réaction présente une absorption maximum. Cette valeur est différente de celle indiquée par TRACEY (470 m $\mu$ ), ce qui tient sans doute au manque de sélectivité des écrans employés.

## 2. Durée de développement de la coloration.

EXPÉRIENCE N° 75 /520129.

On mesure, à des intervalles de temps déterminés, l'intensité de la coloration présentée par un mélange d'arabinose (2 ml. de solution aqueuse à 0,125 g. p. 1000 ml.) et de réactif (6 ml.). On contrôle périodiquement la température du laboratoire, comprise entre 13° et 18°.

Les chiffres d'opacités expriment la moyenne de trois essais identiques.

| <i>Temps en heures</i> | <i>O. T. D.</i> |
|------------------------|-----------------|
| 3                      | 27              |
| 6                      | 35              |
| 20                     | 79              |
| 21                     | 80              |
| 22                     | 82              |
| 24                     | 88              |
| 25                     | 90              |
| 26                     | 93              |
| 27                     | 96              |
| 28                     | 99              |
| 48                     | 124             |
| 72                     | 134             |

On voit qu'au bout du premier jour l'absorption n'a pas atteint son maximum, puisqu'elle augmente de 40 p. 100 dans les 24 heures suivantes, et de 8 p. 100 après un troisième jour. La coloration persiste d'ailleurs longtemps encore avant de décroître.

Toutefois le délai de 24 heures fixé pour la mesure sera justifié par des considérations ultérieures, relatives à l'interférence de substances voisines (glucose, galactose).

### 3. Température.

Le développement de la réaction est fortement modifié par les variations de température, comme le montre l'essai suivant :

EXPÉRIENCE N° 71 /511115.

Des mélanges identiques d'arabinose et de réactif à l'acétate d'aniline sont conservés 24 heures à la glacière, à la température du laboratoire et enfin à l'étuve à +37°.

On détermine alors l'intensité de leur coloration, ainsi que l'absorption d'essais à blanc soumis aux mêmes conditions. Les chiffres rapportés pour les différentes températures correspondent chacun à la moyenne de trois essais semblables.

| Températures | 4° | 20° | 37° |
|--------------|----|-----|-----|
| O. T. D.     | 18 | 135 | 162 |

La température exerce donc une influence que met bien en évidence l'étude de la réaction du point de vue cinétique :

EXPÉRIENCE N° 76 /520129.

Les conditions opératoires sont calquées sur celles de l'essai n° 75, page 54. Mais les mélanges sont conservés à l'étuve à 37°, en tubes bouchés pour éviter toute évaporation.

| Temps en heures | O. T. D. |
|-----------------|----------|
| 3               | 73       |
| 6               | 123      |
| 14              | 129      |
| 15              | 129      |
| 16              | 130      |
| 18              | 130      |
| 19              | 130      |
| 20              | 131      |
| 21              | 131      |
| 22              | 131      |
| 24              | 133      |
| 25              | 134      |
| 26              | 134      |
| 27              | 136      |
| 48              | 150      |
| 72              | 161      |

L'élévation de température de 15° à 37° accélère considérablement le développement de la coloration. A la sixième heure, l'absorption atteint déjà 92 p. 100 de sa valeur mesurée après un jour. Au delà, l'accroissement

d'intensité n'est que de 12 p. 100 au terme d'un délai supplémentaire de 24 heures, et de 7 p. 100 à la suite d'un troisième jour.

Néanmoins l'adoption de la température ordinaire s'expliquera là encore par le rôle de substances interférentes.

#### 4. Radiations lumineuses

La lumière provoque une diminution de la coloration, en rapport avec sa propre intensité. Observant que le phénomène était plus sensible avec le xylose qu'avec par exemple le galactose (tandis que la réaction du glucose n'était pas modifiée), TRACEY a choisi le développement à l'obscurité, que nous avons également adopté.

#### 5. Composition du réactif.

Deux points sont à considérer :

- la teneur en aniline,
- la présence d'autres composants.

##### 1. Concentration en aniline.

L'intensité de la coloration, développée à la température ordinaire et pendant une durée inférieure à 48 heures, croît en fonction du taux d'aniline, à des concentrations variant de 5 à 12 p. 100 (TRACEY).

Mais à partir de 8 p. 100, l'accroissement est plus faible dans le cas du xylose que dans ceux du glucose et du galactose.

Pour allier à une sensibilité maximum un optimum de spécificité, on a donc fixé la concentration finale du mélange en aniline à 8 p. 100.

##### 2. Addition d'adjuvants.

Procédant à l'étude systématique de l'influence de certaines substances — (signalées par ADAMS et CASTAGNE (1) comme stabilisant la coloration produite par le furfural avec l'acétate d'aniline) — TRACEY remarquait que l'acide oxalique, alors qu'il réduisait l'absorption présentée par le glucose et le galactose, accroissait au contraire l'intensité de la coloration due au xylose.

Cette constatation l'incitait à faire entrer l'acide oxalique dans la composition de son réactif, dont la conservation se trouvait du même coup améliorée.

Nous avons observé personnellement l'intensification apportée à la coloration produite par l'arabinose.

EXPÉRIENCE N° 49 /510507.

Des quantités identiques d'arabinose sont traitées par des solutions à concentrations égales d'acide acétique et d'aniline, mais dont l'une renferme en outre de l'acide oxalique :

|                                                        | Réactif I | Réactif II |
|--------------------------------------------------------|-----------|------------|
| Acide acétique                                         | 50 ml.    | 50 ml.     |
| Acide oxalique (en solution aqueuse à 5 g. p. 100 ml.) | —         | 5 ml.      |
| Eau distillée                                          | 17 ml.    | 12 ml.     |
| Aniline                                                | 8 ml.     | 8 ml.      |

Dans chaque cas, l'essai est pratiqué sur deux doses différentes de pentose.

On mesure l'absorption des mélanges après 24 heures à la température ordinaire.

| <i>Arabinose<br/>dans la prise d'essai</i> | <i>O. T. D.</i> |                                                |
|--------------------------------------------|-----------------|------------------------------------------------|
|                                            | <i>I</i>        | <i>II</i><br>(en présence<br>d'acide oxalique) |
| 0,25 mg.                                   | 128             | 273                                            |
| 0,50 mg.                                   | 221             | 495                                            |

L'addition d'acide oxalique accroît donc considérablement l'intensité de la coloration fournie par les pentoses.

Malgré cet avantage, nous n'avons pas cru devoir retenir cet adjuvant. En effet, l'apparition dans les mélanges, au bout de vingt-quatre heures, d'un dépôt cristallin, dû sans doute à une précipitation de l'acide, constituait un léger inconvénient technique. D'autre part, nous avons jugé plus prudent de ne pas introduire dans la réaction un nouveau facteur agissant suivant un mécanisme ignoré.

## 6. Autres glucides.

Quelques autres glucides (notamment le glucose, le galactose, l'acide galacturonique) réagissent également avec l'acétate d'aniline.

*L'influence du glucose* a été l'objet de divers essais.

EXPÉRIENCE N° 74 /520128.

On détermine, dans les conditions habituelles, l'absorption présentée par des solutions aqueuses de glucose à différents titres, 24 et 40 heures après l'addition de réactif à l'acétate d'aniline.

On effectue parallèlement la réaction sur l'arabinose, et l'on prend dans chaque cas la moyenne de deux essais identiques.

| <i>Glucide<br/>dans la prise d'essai</i> | <i>O. T. D.</i>          |                          |
|------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                          | <i>(après 24 heures)</i> | <i>(après 40 heures)</i> |
| Glucose 0,3 mg.                          | 39                       | 60                       |
| — 0,5 mg.                                | 57                       | 97                       |
| — 1 mg.                                  | 108                      | 197                      |
| Arabinose 0,25 mg.                       | 92                       | 112                      |

Le glucose fournit donc en présence d'acétate d'aniline une coloration jaune comparable à celle des pentoses.

L'intensité en est proportionnelle aux quantités de glucide mises en jeu.

Mais la vitesse de développement de la réaction est différente : en effet après 24 heures à la température ordinaire, l'absorption produite par 0,3 mg. de glucose représente 42 p. 100 de celle fournie par 0,25 mg. d'arabinose, alors qu'au bout de 40 heures ce rapport prend une valeur de 53 p. 100.

D'autre part les variations de température influencent de façon plus sensible encore la marche de la coloration.

Nous l'avons mis en évidence dans de nombreux essais, où l'addition de sérum sanguin en quantité fixe constituait un apport de glucose, soumis à de légères variations en fonction de la teneur du sérum :

EXPÉRIENCES N<sup>os</sup> 77 à 80 /520130-0206.

Alors que, dans les conditions expérimentales choisies, l'interférence du sérum (essentiellement imputable au glucose) représentait en moyenne 35 p. 100 de l'absorption due à la quantité d'arabinose introduite, ce taux atteignait 70 et 90 p. 100, si le développement de la coloration s'effectuait à l'étuve à 37° au lieu de la température ordinaire.

TRACEY avait déjà souligné cet accroissement de l'interférence due au glucose en rapport avec l'élévation de la température. Quant au galactose, il donne lieu au même phénomène, quantitativement plus important d'ailleurs, mais qui ne risque guère de se produire avec le sérum.

## CONCLUSION

1. — La coloration propre due aux hexoses et spécialement les modalités de la cinétique de la réaction qu'ils fournissent, expliquent les conditions adoptées pour cette réaction directe des pentoses en ce qui concerne la durée de développement de la coloration (limitée à 24 heures) et la température d'expérience (celle du laboratoire, comprise entre 15° et 25° environ).

2. — Une modification minime de l'un des facteurs influençant la réaction est susceptible d'entraîner une variation sensible du développement de la coloration.

Ceci implique la nécessité d'effectuer, lors de chaque essai, des réactions témoins sur un pentose pris comme étalon, garantissant la valeur des déterminations à travers les éventuels changements des conditions expérimentales quotidiennes, et justifie le mode opératoire que nous proposons.

---



## CHAPITRE II

---

### MODE OPÉRATOIRE PROPOSÉ

---

#### TECHNIQUE

##### 1. — Réactifs.

- (1) Solution aqueuse à 0,020 g. p. 100 ml. de pentose (xylose, ribose, arabinose) pour l'établissement de témoins.

(La solution peut être conservée sans altération pendant quelques jours, à la glacière à + 4°.)

- (2) Solution acétique d'acétate d'aniline :

|                          |        |
|--------------------------|--------|
| Acide acétique pur.....  | 50 ml. |
| Eau distillée.....       | 17 ml. |
| Aniline redistillée..... | 8 ml.  |

(Ce réactif, pratiquement incolore, doit être maintenu à l'obscurité. Sa conservation étant limitée, il est préférable de n'en préparer chaque fois que la quantité nécessaire.)

##### 2. — Mode opératoire.

— Opérer sur une solution contenant une quantité de pentose comprise entre 50 et 250  $\mu\text{g.}$ , sous un volume de 1 ml.

Effectuer parallèlement un essai à blanc sur 1 ml. d'eau distillée.

Enfin préparer, pour l'étalonnage, des témoins renfermant, sous le même volume de 1 ml., des quantités de l'ordre de 100 à 200  $\mu\text{g}$  du pentose à doser.

— Ajouter à l'essai et aux témoins 3 ml. de réactif à l'acétate d'aniline, mélanger. Noter l'heure.

Conserver les tubes, recouverts d'une plaque de verre pour éviter les poussières, pendant 24 heures exactement à la température du laboratoire ( $15^{\circ}$  —  $25^{\circ}$ ) et à l'obscurité.

— Au terme de ce délai, mesurer l'intensité de la coloration jaune développée, à l'électrophotomètre de MEUNIER, dans les conditions générales indiquées, sous écran Bleu permettant une absorption maximum au voisinage de 130 m $\mu$ .

### 3. — Calcul des résultats.

La soustraction du chiffre fourni par l'essai à blanc permet d'obtenir, tant pour l'échantillon analysé que pour les témoins, la valeur de l'opacité « tare déduite ».

Les réactions pratiquées sur une solution étalon du pentose à doser établissent la correspondance entre les opacités lues et les quantités de glucide introduites. On calcule aisément à partir de ces données, la teneur en pentose de la prise d'essai examinée.

## VALEUR DE LA MÉTHODE

Trois glucides en C<sub>5</sub> ont fait l'objet d'une expérimentation parallèle : le xylose, le ribose, l'arabinose. L'intensité de la coloration produite est linéairement proportionnelle à la concentration du mélange en pentose.

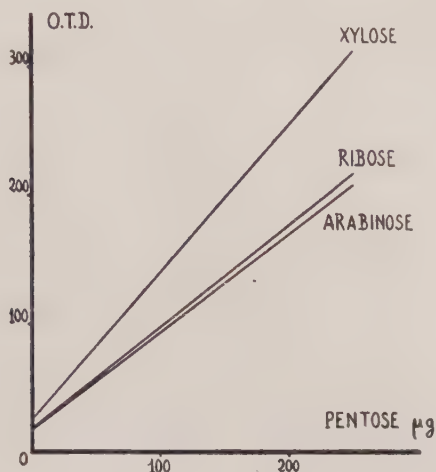
Mais si l'on constate dans chaque cas le développement d'une coloration jaune, on observe par contre, en ce qui concerne l'intensité des réactions, des écarts importants entre les différents glucides.

Le graphique ci-contre rend compte de tous nos essais. Les abscisses représentent en  $\mu$ g les quantités des trois pentoses employés et les ordonnées les opacités (exprimées en divisions de l'appareil).

Directement mis en présence d'acétate d'aniline, les différents pentoses ne réagissent donc pas quantitativement de façon semblable.

Si l'on exprime l'intensité des colorations dues au ribose et à l'arabinose en p. 100 de celle produite par le xylose, on établit l'échelle suivante :

A teneur égale de glucide, la réaction présentée par le ribose n'est en moyenne que de 67 p. 100, et celle de l'arabinose 65 p. 100 de la coloration fournie par le xylose pris comme étalon.



Nous rapprocherons ces chiffres de ceux obtenus en appliquant la méthode par transformation préalable en furfural. Il est curieux de constater que non seulement l'ordre de gradation est le même de l'arabinose au xylose par l'intermédiaire du ribose, mais encore que les rendements, par rapport aux réactions types dues au xylose, sont identiques:

67 et 67 p. 100 dans le cas du ribose,  
64 et 65 p. 100 dans celui de l'arabinose.

Cette concordance ne doit-elle pas appeler une déduction sur le plan théorique? Elle évoque l'existence possible d'un mécanisme similaire des deux réactions et suggère que les groupes fonctionnels intéressés sont probablement les mêmes, lors de la déshydratation en furfural ou dans la réaction directe avec l'acétate d'aniline.

\*\*\*

Nous avons eu déjà l'occasion d'étudier la *spécificité* de la réaction, en signalant l'interférence plus ou moins grande produite par des corps voisins, au premier rang desquels le glucose, le galactose, l'acide galacturonique.

L'influence de la plupart des autres glucides ou dérivés est considérablement moindre.

On verra comment, dans l'application ultérieure de la méthode, la difficulté créée par l'interférence du glucose s'est trouvée résolue.

Du point de vue de la *sensibilité*, l'ordre de grandeur des prises d'essai (50 à 250  $\mu$ g) permet d'attribuer à la technique le caractère d'un micro-dosage.

Enfin la *fidélité* de la réaction a été éprouvée à maintes reprises, par l'exécution parallèle d'essais identiques en série : et nous pouvons affirmer que les résultats sont reproductibles avec des écarts le plus souvent inférieurs à  $\pm 2\%$ .

Néanmoins, dans l'étude du phénomène de pentolyse, et en raison de l'importance du débat engagé, nous avons cru opportun de nous prémunir contre toute possibilité d'erreurs, par la pratique simultanée de plusieurs réactions.

## DOSAGE DIRECT DES PENTOSEES EN PRÉSENCE DE SÉRUM

La mise au point d'une méthode valable de détermination des pentoses ajoutés au sérum — qui constituait une première démarche indispensable dans l'étude de la pentolyse — posait essentiellement le problème de la déprotéinisation.

Il s'avérait en effet indispensable de pratiquer la réaction sur un milieu débarrassé des substances gênantes par défécation : car si le sérum seul additionné d'acétate d'aniline présentait une teinte jaune d'opacité définie, l'intensité de la coloration du même sérum en présence d'arabinose ne correspondait nullement à la somme des opacités respectives du sérum et du pentose en solution pure.

Au contraire la colorimétrie était sans doute possible sur un filtrat clair.

## RÉACTIFS DÉFÉCANTS

L'utilisation classique de la défécation trichloracétique nous a conduit à en faire ici l'essai. Puis nous nous sommes orientés vers un autre agent déprotéinisant : l'hydrate de zinc.

### L'acide trichloracétique.

L'addition au sérum d'un égal volume de solution aqueuse à 20 p. 100 d'acide trichloracétique laisse après centrifugation un liquide surnageant parfaitement incolore et limpide, sur lequel on peut aisément pratiquer la réaction à l'acétate d'aniline.

Par ailleurs, si l'on ajoute à du sérum une certaine quantité d'arabinose, le pentose introduit est intégralement retrouvé après défécation du mélange :

EXPÉRIENCE N° 48 /510507.

A des quantités déterminées d'arabinose, on ajoute un certain volume de « défécât trichloracétique » (liquide clair obtenu par centrifugation d'un mélange de volumes égaux de sérum et d'acide trichloracétique au 1/5).

Parallèlement on prépare des mélanges en proportions voulues du même sérum et d'arabinose, que l'on défèque par la solution trichloracétique. On prélève après centrifugation les liquides surnageants, de telle sorte que les quantités finales respectives de pentose, de sérum et d'acide soient exactement identiques à celles présentes dans les essais correspondants de la première série.

On pratique dans tous les cas la réaction à l'acétate d'aniline.

| Arabinose en mg.<br>dans la<br>prise d'essai<br>finale | O. T. D.                                                         |                                                                   |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
|                                                        | des mélanges de pentose<br>et de « défécât<br>trichloracétique » | des mélanges de pentose<br>et de sérum<br>ultérieurement déféqués |
| 0,25                                                   | 285                                                              | 290                                                               |
| 0,50                                                   | 364                                                              | 360                                                               |

Ces résultats montrent que l'on pouvait appliquer valablement un tel mode de défécation. Mais les filtrats trichloracétiques conservent une acidité sensible, et nous jugions préférable d'éviter la présence, dans le milieu réactionnel, de tout facteur susceptible d'exercer une influence propre sur la coloration fournie par les pentoses avec l'acétate d'aniline.

### L'hydrate de zinc.

C'est dans cet esprit que nous avons fait l'essai d'un autre agent déprotéinisant.

L'hydrate de zinc naissant, utilisé d'après SOMOGYI (49), par DORCHE, MATHIAN et AVANTURIER (13) lors du dosage des sucres réducteurs dans les milieux biologiques, s'est révélé satisfaisant à tous égards.

On sait que la défécation est réalisée par le mélange extemporané de solutions d'hydroxyde de sodium et de sulfate de zinc.

Avant d'en exposer les modalités, nous rendrons compte des résultats expérimentaux qui en attestent la valeur :

EXPÉRIENCE N° 53 /5106f5.

Le tableau ci-dessous résumera une description malaisée :

| Essais n°                  | 1                                                 | 2                             | 3                               | 4                                                      | 5                                  | 6                                           |
|----------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------|
|                            | Témoin<br>filtrat<br>NaOH<br>— SO <sub>4</sub> Zn | Témoin<br>défecat<br>zincique | Arabinose<br>(solution<br>pure) | Arabinose<br>+ filtrat<br>NaOH<br>— SO <sub>4</sub> Zn | Arabinose<br>+ défecat<br>zincique | Arabinose<br>+ sérum,<br>puis<br>défecation |
| Sérum                      | —                                                 | 0,3                           | —                               | —                                                      | 0,3                                | 0,3                                         |
| Arabinose<br>(sol. 1/2000) | —                                                 | —                             | —                               | —                                                      | —                                  | 1                                           |
| Eau distillée              | 1,3                                               | 1                             | —                               | 0,3                                                    | —                                  | —                                           |
| Sol. SO <sub>4</sub> Zn    | 0,35                                              | 0,35                          | —                               | 0,35                                                   | 0,35                               | 0,35                                        |
| Sol. NaOH                  | 0,35                                              | 0,35                          | —                               | 0,35                                                   | 0,35                               | 0,35                                        |
|                            | après centrifugation,<br>on prélève :             |                               |                                 | après centrifugation,<br>on prélève :                  |                                    |                                             |
|                            | 1                                                 | 1                             |                                 | 0,5                                                    | 0,5                                | 1                                           |
| Arabinose<br>(sol. 1/2000) | —                                                 | —                             | 0,5                             | 0,5                                                    | 0,5                                | —                                           |
| Eau distillée              | 1                                                 | 1                             | 1,5                             | 1                                                      | 1                                  | 1                                           |
| Sol. acétate<br>d'aniline  | 6                                                 | 6                             | 6                               | 6                                                      | 6                                  | 6                                           |
| O. T. D.                   | 0                                                 | 42                            | 150                             | 151                                                    | 196                                | 194                                         |

De ces essais on peut conclure :

a) Les filtrats des mélanges de solutions d'hydroxyde de sodium et de sulfate de zinc, qui possèdent une réaction voisine de la neutralité, n'ont pas d'influence propre sur la réaction colorée (essai 1), ainsi qu'en témoigne l'identité d'opacité des essais 3 et 4.

b) Les défécats zinciques produisent une coloration proportionnelle à la quantité de sérum introduite, et qui se surajoute exactement à la réaction des pentoses, ce qui est vérifié par l'égalité des opacités :

$$42 + 150 \neq 196$$

$$(2) \quad (3) \quad (5)$$

c) Enfin l'arabinose ajouté à un sérum avant défécation est intégralement retrouvé dans le liquide surnageant de centrifugation, comme l'attestent les chiffres :

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 196 | # | 194 |
| (5) |   | (6) |

## TECHNIQUE DE DÉPROTÉINISATION

Nous avons donc adopté l'emploi de l'hydrate de zinc naissant, avec les réactifs et suivant les modalités indiqués par AVANTURIER (2).

En voici la préparation et le mode d'utilisation :

(1) Solution d'hydroxyde de sodium (environ N/2)

|                              |                |
|------------------------------|----------------|
| Soude pure en pastilles..... | 2 g.           |
| Eau distillée.....           | q.s.p. 100 ml. |

(2) Solution de sulfate de zinc (ajustée sur la solution de soude)

— On prépare la solution :

|                                                     |                |
|-----------------------------------------------------|----------------|
| $\text{SO}_4\text{Zn}, 7 \text{ H}_2\text{O}$ ..... | 10 g.          |
| Eau distillée.....                                  | q.s.p. 100 ml. |

on filtre.

— dans un vase d'Erlenmeyer on mesure 5 ml. de solution zincique auxquels on ajoute quelques gouttes de solution alcoolique de phénol-phthaléine à 1 p. 100. On verse goutte à goutte, en agitant fortement, la solution de soude contenue dans une burette, jusqu'à coloration rose persistante. On dilue la solution zincique en sorte qu'elle corresponde volume à volume à la solution alcaline.

L'emploi des réactifs doit toujours se faire à parties égales, en commençant par le sulfate de zinc.

Une quantité donnée de sérum est très correctement déféquée par l'addition d'un égal volume de chacune des deux solutions.

Le mélange, centrifugé dès après agitation, laisse un liquide surnageant rigoureusement incolore et limpide.



DEUXIÈME PARTIE

---

Recherches  
sur la pentolyse sérique

---



Tandis que le sérum de sujets normaux ou de malades atteints de diverses affections aiguës ou chroniques n'attaque pas ou presque pas les pentoses, le sérum des cancéreux dégrade ces glucides.

C'est en des termes semblables que Georges MENKES rapportait, devant le V<sup>e</sup> Congrès International contre le Cancer (Paris, Juillet 1950), le résultat d'un ensemble de recherches engagées depuis plusieurs mois (43).

Il affirmait ainsi de façon assez éclatante la mise en évidence d'un phénomène nouveau, qu'il qualifiait de « pentolyse » par analogie avec le processus glycolytique de dégradation des hexoses.

On conçoit facilement le retentissement considérable d'une telle découverte : l'action du sérum cancéreux sur les glucides en C<sub>5</sub> intéressant d'abord le domaine purement théorique de la biologie, mais étant susceptible en même temps d'applications pratiques en clinique.

Sur le plan biologique, on sait l'importance des acides nucléiques à l'échelle cellulaire et le rôle qu'ils jouent dans la croissance des tissus. Ne fallait-il pas voir dans le comportement particulier des pentoses en présence des sérums cancéreux, un témoin significatif des modifications apportées par l'affection au métabolisme nucléo-protéique : la pentolyse touchait dès lors au cœur même du processus de cancérisation.

Sur le plan clinique, si — comme le déclarait MENKES — la pentolyse se révélait « une réaction constante et spécifique » des sérums cancéreux, on possédait là une méthode de choix pour le diagnostic des tumeurs malignes.

De telles considérations suffisaient à justifier l'entreprise de ce travail :

Notre but était de retrouver les faits annoncés par l'auteur et, une fois mise au point et contrôlée la méthode

de dosage, de pratiquer systématiquement la détermination du « pouvoir pentolytique » du sérum, chez les malades du Centre Régional Anti-Cancéreux de Lyon.

On verra comment les premiers résultats orientèrent ces recherches.

Pour une compréhension plus aisée, nous croyons nécessaire de résumer d'abord *les travaux* de G. MENKES. Nous ferons état, dans une seconde partie, de notre *expérimentation personnelle*.

Après quoi nous nous efforcerons de dégager, de l'ensemble de ces données, des *conclusions* logiques.

---

## TITRE I

---

# Les travaux de G. Menkes

---

### LA DÉGRADATION PENTOLYTIQUE

Leur rôle dans la dynamique de l'organisme consacre l'importance biologique des pentoses. Le ribose en particulier, qui entre dans la constitution de certains co-enzymes, se retrouve dans les molécules des acides nucléosides-phosphoriques. Il tient à cet égard une place prépondérante dans la division cellulaire. On sait que les tissus en voie de croissance rapide se caractérisent par une teneur beaucoup plus élevée que celle des tissus normaux en acide ribonucléique.

De là découle l'idée que l'étude des troubles éventuels du métabolisme des pentoses dans le tissu cancéreux — siège de divisions cellulaires « anarchiques » intenses —

---

Les résultats d'ensemble des recherches de MENKES, qui ont donné lieu à d'assez nombreuses publications (38, 39, 40, 42, 50, 51) se trouvent rassemblés dans les communications faites au V<sup>e</sup> Congrès International contre le Cancer (43, 44) et dans un article paru en 1951 dans la Revue *Helvetica Medica Acta* (41).

apporterait des renseignements du plus haut intérêt sur le processus néoplasique.

Dans cet esprit MENKES et ses collaborateurs recherchaient en premier lieu l'action possible du sérum sanguin sur un pentose ajouté.

Ils constataient donc que les sérums normaux et ceux de sujets atteints de maladies diverses aiguës ou chroniques (tuberculose, fibromes et tumeurs bénignes, cirrhose du foie, diabète, etc...) n'attaquaient pas ou n'attaquaient que faiblement les pentoses ajoutés, dans les conditions d'expérience.

Le sérum cancéreux au contraire était capable de les dégrader, avec production d'acides lactique et pyruvique et d'aldéhyde glycolique (\*).

La parenté chimique des corps métabolisés, comme la similitude des produits ultimes de dégradation, suggéraient pour ce phénomène un mécanisme comparable à celui de la glycolyse.

Cette hypothèse s'appuyait sur l'existence — établie par de nombreux auteurs — d'enzymes susceptibles d'intervenir aux stades analogues de l'un et l'autre processus. Par ailleurs les inhibiteurs de la glycolyse entravaient également la pentolyse.

Il semblait donc s'agir d'un phénomène fermentaire, ainsi que le vérifiaient des courbes typiques d'actions enzymatiques. Toutefois ce caractère s'alliait mal avec l'absence de spécificité de la réaction : le sérum cancéreux s'attaquant aussi bien à différents pentoses essayés : d (—) ribose, d (+) xylose, d (—) xylose, d (—) arabinose, l (—) xylose.

Nous exposerons successivement :

— La technique employée par MENKES et ses collaborateurs dans leur étude.

— Les résultats de leurs essais, tant sur le sérum humain que sur celui d'animaux cancérisés.

— Les conclusions de ces expériences.

---

(\*) Dans les sérums cancéreux ayant donné une « pentolyse » positive, les auteurs ont cherché à mettre en évidence les termes en  $C_3$  et en  $C_2$  issus de la dégradation des pentoses : L'acide lactique a été identifié par la méthode de BARKER et SUMMERSON (3) (l'action de  $SO_4H_2$  concentré fournit de l'acétaldéhyde, qui développe avec une solution sodique de p-hydroxy-diphényl, en présence d'ions cupriques, une coloration bleue-violette). L'aldéhyde glycolique par la méthode de DISCHE et BORENFREUND (12) (coloration verte par chauffage avec une solution acétique de diphénylamine).

## MÉTHODE DE DÉTERMINATION DE LA PENTOLYSE

L'examen est pratiqué sur le sang aussi frais que possible, recueilli et manipulé de façon aseptique.

Deux prises d'essai de 0,3 ml. de sérum obtenu par centrifugation sont additionnées, l'une de 0,5 ml. d'eau distillée, l'autre de 0,5 ml. d'une solution aqueuse à 1 p. 1.000 de pentose. Les deux mélanges sont maintenus pendant 2 heures exactement au B.M. à  $+ 37^{\circ}$  C.

On effectue alors le dosage du pentose par la micro-méthode de BRACHET modifiée : transformation en furfural par chauffage en présence d'acide sulfurique à 35 p. 100. L'aldéhyde, isolé par entraînement à la vapeur d'eau, développe, en présence d'acétate d'aniline, une coloration rose proportionnelle en définitive à la quantité de pentose.

On mesure au photomètre l'intensité de la coloration, et l'on soustrait du chiffre trouvé la valeur fournie par la réaction témoin du sérum seul.

Une courbe d'étalonnage dressée avec le glucide utilisé permet de calculer la teneur en pentose du mélange incubé.

En rapportant ce chiffre à 0,5 mg. (quantité initialement introduite) on trouve le pourcentage de pentose disparu dans les conditions décrites, lequel exprime la « pentolyse ».

## RÉSULTATS

Les expériences s'interprètent en fonction du pentose disparu selon les données suivantes :

— Il n'y a pas de « pentolyse », quand la diminution du pentose est inférieure à 5 p. 100.

— Le résultat est douteux pour les chiffres compris entre 5 et 9 p. 100.

— La « pentolyse » est positive, lorsque le pourcentage de pentose disparu excède 10 p. 100.

Les travaux des auteurs suisses ont comporté deux séries de recherches :

Les unes sur le sérum humain, chez les sujets normaux et malades, cancéreux ou non.

Les autres sur le sérum animal, après cancérisation expérimentale.

### **L'expérimentation clinique.**

MENKES rapporte les résultats de 462 analyses pratiquées chez 399 sujets.

La comparaison des sérums normaux et pathologiques le fait conclure à l'apparition constante d'une « pentolyse » exclusivement dans le sérum cancéreux, ce qui confère à ce phénomène le caractère d'une réaction spécifique.

Des tableaux récapitulatifs font état d'environ 90 p. 100 de résultats « justes », c'est-à-dire de pentolyses positives ou négatives selon que les sérums expertisés sont cancéreux ou non.

Outre l'intérêt diagnostique de la méthode, la détermination du pouvoir pentolytique prend une valeur pronostique, lorsque l'examen est pratiqué chez un sujet traité chirurgicalement par ablation de la tumeur : la persistance d'une pentolyse élevée signifierait un danger de récurrence avec tendance aux métastases, alors qu'un taux redevenu normal serait le signe de la « guérison ».

### **L'expérimentation animale.**

La propriété pentolytique se retrouvait-elle dans le sérum d'animaux cancérisés chimiquement ?

Dans le but de l'établir, G. MENKES et S. STEEN instituaient une série d'expériences sur des rats albinos (44, 50, 51). L'agent cancérigène utilisé était le 20-méthyl-cholanthrène, administré par injection abdominale sous-cutanée d'une suspension huileuse.

Alors que les rats de contrôle ne présentaient ni tumeur, ni pentolyse, les conditions d'apparition du phénomène chez les rats injectés incitaient les auteurs à voir dans la pentolyse une manifestation *précoce* du processus de cancérisation.

## CONCLUSION

Les résultats exposés ci-dessus ont conduit MENKES à considérer la pentolyse comme un « fait établi », propriété constante et spécifique des sérums cancéreux.

Il est intéressant toutefois de noter ces remarques formulées par l'auteur :

Pour déterminer les conditions optimum de mise en présence du sérum et du substrat (celles signalées dans la technique), furent pratiqués des essais à concentrations variables de chaque constituant : en ajoutant un volume supérieur de sérum à la quantité choisie de pentose, mais sous volume réduit, les auteurs constataient la disparition du pentose dans le sérum normal, sans augmentation de pentolyse dans le sérum cancéreux. Il leur fallait donc « admettre, dans certaines conditions, une attaque du pentose par le sérum normal ».

L'action inhibitrice du sérum normal constituait un autre fait remarquable, dont le mécanisme demeurait inexpliqué : l'addition de sérum normal à un sérum pentolysant — à partir d'une concentration de 1/10 représentant le seuil d'inhibition — entravait l'activité pentolytique du sérum cancéreux.

MENKES rapprochait de ce phénomène l'inhibition également constatée chez les sujets ayant subi une transfusion sanguine.

Sur le plan pharmacologique, les auteurs signalaient en outre qu'androgènes et œstrogènes étaient capables de diminuer, voire d'annuler la pentolyse, tandis que la streptomycine, de par l'existence de streptose dans sa molécule, rendait la réaction chimiquement difficile.

Enfin, il ne faut pas oublier le rôle possible joué par l'infection, dans la détermination d'une pentolyse en apparence élevée : la présence éventuelle dans le sang de micro-organismes susceptibles d'attaquer les pentoses, constituait en effet une cause d'erreur. Les auteurs s'attachaient à en éliminer le risque, par l'utilisation d'antibiotiques ou la filtration sur bougie. Cette influence d'un facteur infectieux motivait par ailleurs les recommandations techniques relatives au prélèvement aseptique du sang et à l'emploi de matériel et réactifs stériles. Nous aurons l'occasion d'y revenir plus loin.

Telles sont en bref les lignes essentielles des travaux qui ont déterminé notre recherche.

Signalons avant de terminer que MENKES tirait encore argument du fait que l'injection au rat cancérisé de ribonucléase — capable d'inactiver les acides ribonucléiques en les dépolymérisant — diminuait fortement le phénomène de pentolyse et paraissait entraver chez cet animal le développement des tumeurs greffées.

---

## TITRE II

---

### Recherches personnelles

---

L'exposé de cette partie respectera le plus souvent l'ordre chronologique, permettant de mieux suivre en son évolution l'esprit de ces recherches.

La vérification préliminaire des affirmations de MENKES impliquait l'utilisation de la technique même de l'auteur : tant en ce qui concerne la réaction du sérum sur le pentose, que pour l'estimation de celui-ci.

Nous avons donc appliqué — après en avoir étroitement étudié les modalités — la méthode de dosage des pentoses par transformation en furfural : les premiers essais ne fournissaient pas de résultats significatifs dans le sens escompté.

Connaissant les aléas de la transformation des glucides en  $C_5$  en aldéhyde furfurylique, on pouvait craindre qu'en présence de sérum, le réactif sulfurique très concentré, imposé par le choix des conditions opératoires, ne donnât lieu à des modifications complexes et irrégulières.

Les défaillances possibles d'une méthode, qui par ailleurs se prêtait assez mal à la réalisation en série, nous incitaient à rechercher dans une technique d'exécution plus simple, une précision au moins comparable.

Après avoir établi la valeur d'un dosage colorimétrique des pentoses, par réaction directe avec l'acétate d'aniliné, nous l'avons adapté aux nécessités de notre étude.

Une fois précisés enfin les points relatifs à la mise en présence du sérum et du substrat, nous avons défini une technique de détermination du pouvoir pentolytique du sérum sanguin, à l'aide de laquelle nous avons entrepris une investigation systématique.

On aura vu dans cette introduction l'enchaînement des différents chapitres de cet exposé :

*Essais pratiqués avec la méthode au furfural inspirée de celle de MENKES.*

*Mise au point expérimentale d'une autre méthode d'étude.*

*Technique de détermination du pouvoir pentolytique du sérum.*

— Comparaison des deux méthodes par des essais parallèles.

*Résultats des essais portant sur le sérum sanguin.*

— Recherche d'un pouvoir pentolytique éventuel du tissu cancéreux.

*Discussion et interprétation des résultats.*

---

## CHAPITRE I

---

### ESSAIS PRATIQUÉS AVEC LA MÉTHODE AU FURFURAL

---

La technique suivie dans ces expériences s'inspire directement de celle de MENKES rapportée p. 75.

L'incubation du mélange de sérum et de pentose comporte un séjour analogue de deux heures au B.M. à + 37° C. Toutefois, dans ces essais d'orientation, nous n'avons pas toujours mis en présence les mêmes proportions de sérum et de glucide : Les quantités d'arabinose utilisées (soit 1 et 2 mg., exceptionnellement 4 mg.) ont été introduites en solution aqueuse à 1 p. 100. Les volumes de sérum ajoutés furent de 0,3 — 0,5 ou 0,6 ml.

La transformation ultérieure du pentose en furfural et le dosage colorimétrique de ce dernier s'opéraient selon le protocole décrit p. 45.

La mise en évidence et l'évaluation d'une « pentolyse » peuvent s'effectuer d'après le principe suivant :

Deux prises d'essai identiques d'un sérum frais reçoivent la même quantité d'arabinose. Dans l'un des mélanges, l'addition immédiate du réactif sulfurique concentré (utilisé pour la transformation en furfural) provoque la précipitation des protéines et rend le milieu impropre au développement de toute action enzymatique.

L'autre tube est porté au B. M. à +37° C pendant deux heures, durant lesquelles une partie du pentose est éventuellement dégradée. Au terme de cette incubation, on ajoute également à ce mélange de l'acide sulfurique.

On détermine ensuite parallèlement la quantité d'arabinose présente dans chacun des deux essais, en pratiquant, comme il a été dit, l'entraînement à la vapeur et la colorimétrie.

La différence entre les deux résultats rend compte de l'action du sérum expertisé sur le pentose, durant le séjour à 37° C.

Nous rapportons ci-après les expériences effectuées sur douze sérums de sujets normaux ou de malades.

Les chiffres cités sont les valeurs des opacités lues (l'intensité de la coloration mesurant en définitive la quantité d'arabinose). Les pourcentages d'écarts sont établis par rapport au chiffre trouvé pour le premier essai, qui exprime la totalité du pentose initialement introduit.

| N° | Nom | Sexe | Etat<br>des<br>sujets       | Diagnostic                                                                | O. T. D.            |       | Diffé-<br>rence<br>p. 100 |
|----|-----|------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------|---------------------------|
|    |     |      |                             |                                                                           | avant<br>incubation | après |                           |
| 1  | D.  | F    | Normaux                     |                                                                           | 68                  | 72    | + 5,8                     |
| 2  | B.  | F    |                             |                                                                           | 195                 | 209   | + 7,1                     |
| 3  | R.  | M    |                             |                                                                           | 133                 | 136   | + 2,2                     |
| 4  | X.  | M    | Malades<br>non<br>cancéreux | Ictère                                                                    | 63                  | 64    | + 1,5                     |
| 5  | X.  | M    |                             | Ictère                                                                    | 110                 | 108   | — 1,0                     |
| 6  | G.  | M    |                             |                                                                           | 231                 | 242   | + 4,7                     |
| 7  | C.  | M    | Cancéreux                   | Tumeur<br>de l'amygdale                                                   | 233                 | 239   | + 2,5                     |
| 8  | C.  | M    |                             | Tumeur<br>de la langue                                                    | 207                 | 220   | + 6,2                     |
| 9  | A.  | M    |                             | Tumeur<br>de la cuisse                                                    | 221                 | 224   | + 1,3                     |
| 10 | P.  | M    |                             | Tumeur<br>de la langue                                                    | 199                 | 187   | — 6,0                     |
| 11 | C.  | M    |                             | Tumeur<br>du rectum                                                       | 179                 | 181   | + 1,1                     |
| 12 | C.  | M    |                             | Tumeur du plan-<br>cher de la bou-<br>che et du maxil-<br>laire inférieur | 152                 | 145   | — 4,6                     |

L'examen de ces résultats montre en premier lieu qu'il n'existe pas de différence entre sérums normaux et cancéreux du point de vue de leur action sur un pentose ajouté.

Nous n'avons pu mettre en évidence aucun phénomène de pentolyse, le plus important déficit observé (— 6 p. 100) étant loin d'atteindre les taux considérables annoncés, mais demeurant au contraire dans la zone des chiffres précisément déclarés douteux par MENKES.

Les écarts entre la quantité de pentose retrouvée et celle initialement introduite, qui s'étagent approximativement de — 5 à + 5 p. 100, témoignent donc uniquement des limites de précision de la technique.

Ces premières constatations négatives nous ont incité à poursuivre l'étude de la « pentolyse » à l'aide d'une autre méthode.

## CHAPITRE II

---

### MISE AU POINT EXPÉRIMENTALE DE LA MÉTHODE D'ÉTUDE

---

Avant d'exposer en son ensemble la technique définitivement arrêtée pour notre étude de la « pentolyse », il nous faut dire les raisons de ce choix.

A chaque stade se posaient des problèmes que nous nous sommes efforcés de tous envisager. Cette mise au point nécessitait des essais assez divers, dont nous grouperons les résultats autour de chaque temps de la méthode :

- prélèvement du sang à expertiser,
- action du sérum sur le substrat,
- évaluation du pentose introduit et retrouvé.

#### A. — CHOIX D'UNE TECHNIQUE DE DOSAGE DES PENTOSE

Cette question — qui, dans l'ordre des manipulations, n'intervient qu'ultérieurement — sera rapidement évoquée pour mémoire. Nous ne ferons que rappeler l'adoption d'une méthode de dosage colorimétrique, basée sur la réaction directe des pentoses avec l'acétate d'aniline.

La justification de cette technique a fait l'objet d'un précédent chapitre, et les modalités en ont été exposées dans le détail.

Qu'il nous suffise d'ajouter que les conditions de dosage (concentration en pentose — réaction du milieu)

s'adaptaient sans difficulté aux exigences de notre évaluation.

## B. — PRÉLÈVEMENT DU SANG A EXPERTISER

L'influence possible des phénomènes digestifs sur la propriété « pentolytique » ne paraît pas avoir retenu l'attention de MENKES. Encore que leurs effets doivent être négligeables, il était facile d'éliminer cet éventuel facteur de variations, d'autant plus que notre technique de dosage des pentoses gagnait à éviter la présence en excès d'autres glucides (hexoses) qui fournissent avec l'acétate d'aniline une semblable coloration jaune.

Tous les prélèvements ont donc été effectués sur des sujets à jeun, par ponction veineuse au pli du coude.

Par contre, l'auteur suisse insiste beaucoup sur la nécessité d'un prélèvement aseptique. L'emploi de matériel et de réactifs stériles, jusqu'au stade de la mise en contact du sérum et du substrat, répond à la même préoccupation : écarter la cause d'erreur possible d'une infection bactérienne, susceptible — par l'utilisation partielle du pentose présent — de faire conclure à tort à une dégradation pathologique, au sens où l'entend G. MENKES.

Ces précautions, fondées en théorie, l'étaient-elles en pratique ? Dans quelle mesure l'influence du facteur infectieux pouvait-elle retentir sur les résultats ? Nous avons cherché à préciser ce point, ne voulant pas accroître la difficulté de la méthode par des manipulations astreignantes, sans en avoir vérifié le caractère indispensable.

Il est nécessaire, pour la compréhension des essais mis en œuvre, d'anticiper un peu sur l'exposé de notre technique : Cette détermination du pouvoir pentolytique emprunte le principe de la méthode de MENKES (voir p. 75). En voici brièvement résumées les manipulations successives :

Deux prises d'essai identiques d'un sérum sont additionnées l'une de solution aqueuse de pentose, l'autre d'un égal volume d'eau distillée, et les deux mélanges sont maintenus deux heures au B.M. à + 37° C.

Après défécation par l'hydrate de zinc naissant, on effectue sur les liquides clairs la réaction colorée à l'acétate d'aniline, dont on mesure l'intensité à l'électrophotomètre. Du chiffre trouvé pour le sérum additionné de pentose, on soustrait celui fourni par le sérum seul (coloration due aux pentoses préexistants et surtout au glucose dont la propre

réaction interfère) pour obtenir la valeur du pentose restant après incubation.

Cette valeur est comparée à celle obtenue dans un essai étalon, où la même réaction colorée est pratiquée sur la quantité de pentose initialement introduite.

On peut dès lors calculer le pourcentage de pentose disparu durant l'incubation, par lequel on définira la « pentolyse ».

#### EXPÉRIENCE N° 73 /511212.

On effectue la détermination du pouvoir pentolytique d'un même sérum, suivant le principe indiqué ci-dessus, en opérant simultanément de trois façons :

1°) Une manipulation est conduite conformément à la technique habituelle, sans précautions spéciales.

2°) Un second essai est mené de façon identique, mais sur un échantillon de sang recueilli sur un antiseptique (\*).

3°) Enfin une troisième série est soumise — jusqu'à l'incubation du sérum en présence de pentose — aux modalités rigoureuses d'une manipulation « stérile » :

— Le sang est prélevé comme pour une hémoculture (flambage sur une lampe à alcool) et recueilli dans un tube stérile. Après décollement du caillot à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on centrifuge le sérum en tubes stériles bouchés.

— On utilise de l'eau distillée stérile et une solution d'arabinose filtrée sur bougie. La mise en contact avec le sérum comporte les précautions habituelles aux bactériologistes (pipettes et tubes stériles — flambage des cotons de bouchage à chaque manipulation).

Après le séjour de deux heures au B.M. à + 37°C, tous les essais sont soumis ensemble au dosage.

Nous avons vérifié en premier lieu que les différences de traitement n'entraînaient pas de modification dans la réaction colorée, en pratiquant les témoins d'étalonnage non seulement sur la solution habituelle d'arabinose et celle filtrée sur bougie, mais aussi sur une solution additionnée de bromure de cétyl-diméthyl-cyclohexanol-ammonium, en quantité égale à celle présente dans le sérum incubé.

Les valeurs d'opacité mesurant la réaction colorée (deux essais identiques pour chacune des trois solutions) ne montrent entre elles aucune différence :

91 — 90 — 90 — 91 — 92 — 91

De même les chiffres d'opacité fournis par le sérum seul sont pratiquement identiques, quel que soit le protocole suivi.

---

(\*) On a utilisé le bromure de cétyl-diméthyl-cyclohexanol-ammonium, sous forme de « Biocidan chirurgical », la concentration finale de l'antiseptique étant de 1 p. 1.000. A noter la coagulation défectueuse de l'échantillon de sang ainsi recueilli, et son importante hémolyse.

Voici maintenant les résultats de l'essai de « pentolyse » proprement dit. Il s'agissait d'une femme de 41 ans, opérée deux ans plus tôt d'une tumeur cancéreuse du sein, et présentant des métastases osseuses. (On rapporte chaque fois la moyenne de trois déterminations semblables, dont les valeurs individuelles sont données à titre indicatif).

|             | <i>Technique<br/>habituelle</i> | <i>Essai<br/>en présence<br/>d'antiseptique</i> | <i>Manipulation<br/>« stérile »</i> |
|-------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Pourcentage |                                 |                                                 |                                     |
| de pentose  | 2,1                             | 0                                               | 3,2                                 |
| disparu     | (—2,1 —2,1 —2,1)                | (—1 0 +1)                                       | (—2,1 —4,3 —3,2)                    |

Un autre contrôle en tous points comparable a été effectué sur le sérum d'un sujet normal :

La manipulation « stérile » a fourni paradoxalement le plus fort pourcentage de pentose disparu, alors que la technique habituelle et celle en présence d'antiseptique conduisaient respectivement aux chiffres voisins de 1,7 et 2,4 p. 100.

Pour les deux sérums envisagés, la « pentolyse » décelée selon le procédé ordinaire est donc inférieure à celle trouvée en opérant aseptiquement, alors que le facteur infectieux jouerait au contraire dans l'autre sens, en accroissant le pourcentage de pentose disparu.

Les différences entre les chiffres fournis par les trois techniques ne sont pas significatives, et nous croyons que, dans la majorité des cas, on peut pratiquer la détermination du pouvoir pentolytique sans risque de fausse interprétation, en négligeant les prescriptions d'asepsie trop impérieuses de MENKES, à condition d'opérer correctement et de mettre l'analyse immédiatement en route sur un sérum aussi frais que possible.

\*  
\*\*

L'utilisation d'agents chimiques antiseptiques, ajoutés au sang au moment du prélèvement, garantirait évidemment de toute perturbation due à une souillure microbienne. C'est dans cet esprit que nous avons institué l'essai suivant :

EXPÉRIENCES N<sup>os</sup> 62 et 64 /511004 et 09.

On a étudié l'influence des antiseptiques, en pratiquant, selon la méthode précédemment relatée, la détermination du pouvoir

pentolytique d'un même sérum, recueilli tel quel ou sur différents agents anti-microbiens. Trois ont été essayés :

— le chlorhydrate d'oxyquinoléine, à la concentration de 0,5 p. 1.000 dans le sang prélevé ;

— le borate de phényl-mercure, au taux de 2 p. 75.000 ;

— le bromure de cétyle-diméthyl-cyclohexanol-ammonium, à la concentration de 1 p. 25.000.

Nous les désignerons, pour la commodité, par les noms de Sunoxol, Merfène et Biocidan.

Il importait de contrôler deux points :

1. D'abord l'influence possible des antiseptiques utilisés sur la réaction colorée des pentoses, c'est-à-dire sur le dosage proprement dit :

Dans ce but l'étalonnage a porté sur des solutions d'arabinose pure ou renfermant les divers agents chimiques, aux concentrations auxquelles ils intervenaient dans les essais correspondants :

*Solutions étalons d'arabinose*

|               | <i>pure</i> | <i>+ Sunoxol</i> | <i>+ Merfène</i> | <i>+ Biocidan</i> |
|---------------|-------------|------------------|------------------|-------------------|
| Opacité T. D. | 263         | 267              | 269              | 267               |

On voit que, dans les conditions indiquées, aucun des trois corps ne modifie la réaction à l'acétate d'aniline, ainsi qu'en témoigne encore l'identité des chiffres observés pour les témoins du sérum, que le sang ait été recueilli avec ou sans antiseptique :

66 — 68 — 64 — 64.

2. En second lieu il fallait rechercher si l'addition d'anti-microbiens n'exerçait pas une influence sur la « pentolyse » elle-même.

Avec le sérum d'un sujet masculin normal de 26 ans, nous avons obtenu, par rapport à la quantité d'arabinose introduite avant l'incubation, les pourcentages d'écarts suivants :

|                   | <i>Sérum<br/>pur</i> | <i>Sérum + Antiseptiques</i> |                |                 |
|-------------------|----------------------|------------------------------|----------------|-----------------|
|                   |                      | <i>Sunoxol</i>               | <i>Merfène</i> | <i>Biocidan</i> |
| Différence p. 100 | + 0,7                | 0                            | 0              | + 0,3           |

Mais la similitude de ces « pentolyses » négatives (sujet normal) n'excluait pas la possibilité d'une action des antiseptiques sur le processus pentolytique.

Un autre essai a donc été pratiqué sur le sang d'une malade cancéreuse, âgée de 72 ans, présentant une tumeur du col utérin. Les écarts observés furent les suivants :

|                   | Sérum<br>pur | Sérum + Antiseptiques |         |          |
|-------------------|--------------|-----------------------|---------|----------|
|                   |              | Sunoxol               | Merfène | Biocidan |
| Différence p. 100 | — 4,5        | — 0,8                 | — 2,1   | — 0,4    |

Le pourcentage de pentose disparu en présence de sérum pur est bien légèrement supérieur à ceux des trois autres essais. Toutefois la différence est insuffisante pour conclure. Il aurait fallu, pour établir de façon nette dans quelle mesure les antiseptiques entravent la dégradation enzymatique des pentoses, opérer sur un sérum présentant un réel et important pouvoir pentolytique.

\*  
\*\*

Pour mieux situer le rôle éventuel du facteur infectieux, susceptible d'entraîner de « fausses pentolyses », nous avons pensé tirer parti d'une telle expérience :

La détermination du pouvoir pentolytique dans le sérum de sujets présentant une hémoculture positive, aurait pu permettre d'apprécier l'influence d'une bactériémie prouvée sans conteste par des épreuves de laboratoire. Si vraiment il se produisait une dégradation non pathologique (au sens de MENKES), on aurait pu alors étudier l'empêchement de ce phénomène perturbateur : laissant de côté les antiseptiques, capables d'inhiber à la fois la dégradation microbienne des pentoses et le processus « pentolytique », pour rechercher dans l'emploi d'antibiotiques une action plus nuancée, respectant la « pentolyse » proprement dite. Nous n'avons pu malheureusement réaliser ces essais.

\*  
\*\*

Ayant envisagé sous divers aspects la question du prélèvement et des premières manipulations du sérum, il faut maintenant conclure, en arrêtant un mode opératoire.

Nous retenons les résultats fournis par l'expérience n° 73, qui n'a montré aucune différence valable en fonction des protocoles mis en œuvre. Répétons donc que le sang sera recueilli, sans modalité particulière, par ponction veineuse, et que l'exécution sans délai de l'analyse écartera efficacement les risques de souillure microbienne.

La constatation d'un fort pourcentage de pentolyse serait-elle suspecte ? On aurait le loisir de rechercher le rôle éventuel d'un facteur infectieux. On verra par la suite que l'occasion ne nous en a pas été donnée.

### C. — ACTION DU SÉRUM SUR LE SUBSTRAT

C'est par définition le temps essentiel, car répondant au principe même du phénomène étudié.

Il évoque deux questions :

— Quel substrat offrir à l'action « pentolytique » du sérum ?

— Dans quelles conditions précises de température, de temps et de concentrations, doit-on réaliser la mise en présence du pentose et du sérum ?

Nous envisagerons successivement ces deux points.

#### I) Choix d'un substrat.

Nous avons vu qu'aux dires de MENKES l'action des sérums cancéreux s'exercerait indifféremment sur un certain nombre de pentoses essayés par l'auteur. Ce manque de spécificité, difficilement compatible avec les caractères habituels d'un phénomène fermentaire, s'expliquerait peut-être par une « dédifférenciation », accompagnant dans les cellules cancéreuses une perte des activités enzymatiques, manifestation biochimique d'anaplasie.

L'arabinose a été le glucide en  $C_5$  presque constamment utilisé dans notre expérimentation, parce que le plus facilement accessible.

Ce substrat était déclaré convenir au développement d'une action « pentolytique ». Nous avons tenu néanmoins à justifier notre choix, en vérifiant que l'arabinose conduisait à des résultats identiques à ceux fournis par le ribose. C'est en effet ce dernier glucide qui a été le plus couramment mis en œuvre dans les recherches des auteurs suisses.

EXPÉRIENCE N° 84 /520305.

On établit deux ensembles d'essais :

Dans une première série, on applique à des sérums la technique d'étude de la « pentolyse » sommairement décrite plus haut, le pentose utilisé étant l'arabinose.

Dans la seconde, c'est en présence de ribose que s'effectue l'incubation des mêmes sérums.

Par référence aux étalons respectifs, on détermine le pourcentage d'écart entre la quantité de pentose retrouvée et celle initialement introduite.

L'examen a porté sur le sang de cinq malades, toutes atteintes d'affections cancéreuses.

Les chiffres ci-dessous correspondent, selon les cas, à la moyenne de 2 ou 3 essais identiques.

*Différences p. 100 par rapport  
aux quantités de pentose ajoutées*

| Sérums    | Essais sur arabinose | Essais sur ribose |
|-----------|----------------------|-------------------|
| N° 1 — B. | — 0,8                | + 3,3             |
| N° 2 — C. | — 3,2                | 0                 |
| N° 3 — G. | — 1,6                | 0                 |
| N° 4 — P. | — 5,3                | — 7,3             |
| N° 5 — R. | — 5,3                | — 0,8             |

On peut remarquer dès maintenant ces résultats tous négatifs (« pentolyses » inférieures à 10 p. 100), alors qu'il ne s'agit que de sujets cancéreux.

D'autre part les écarts observés entre les deux séries de mesures sont, par leur ordre de grandeur, imputables à la méthode de dosage. Ceci confirme qu'on aboutit au même résultat, que le sucre soumis à l'action « pentolytique » soit l'arabinose ou le ribose.

## II) Modalités de mise en présence du sérum et du substrat.

Trois facteurs classiques de toute action enzymatique étaient susceptibles de jouer aussi à propos de la dégradation des pentoses :

- la température de réaction,
- la durée du contact,
- les concentrations respectives de sérum et de substrat.

### 1) Température.

Son influence n'a pas été étudiée à nouveau. Sans doute, de par son caractère fermentaire, le phénomène aurait-il été jusqu'à un certain point accru ou accéléré par une légère élévation de la température réactionnelle. Celle de 37° fixée par MENKES, et qu'adoptent de nombreuses autres techniques mettant en œuvre une action diastasique, nous a paru convenir.

Nous avons donc retenu pour l'incubation le séjour au B.M. à + 37° C.

### 2) Durée.

Le temps imparti par MENKES au contact du sérum et du pentose est de deux heures. L'auteur indique d'ailleurs que l'on peut accroître l'importance de la « pentolyse », en

augmentant la durée du séjour à 37° : le pourcentage de pentose disparu serait approximativement doublé, par la poursuite de l'incubation durant une nouvelle période de deux heures.

Les faibles valeurs des écarts observés lors de nos premières déterminations nous incitaient à chercher dans cette voie, pour rendre plus sensible la mise en évidence du phénomène.

A plusieurs reprises, la pratique d'essais parallèles sur des mélanges identiques respectivement incubés 2 et 4 heures, ne nous a pas fourni de résultats satisfaisants. La raison en tient sans doute au fait que nous ne disposions pas de sérums franchement « pentolysants ».

En conséquence nous avons cette fois encore conservé, pour le séjour à 37°, la durée de deux heures. L'adoption de conditions opératoires, aussi proches que possible de celles de MENKES, présentait en un sens l'avantage de pouvoir mieux comparer notre expérimentation à la sienne.

Il importe en tout cas qu'au terme de l'incubation, la dégradation des pentoses ne puisse se poursuivre pendant le temps de leur évaluation. La défécation par l'hydrate de zinc réalise à cet égard une parfaite garantie, stoppant le développement de toute action fermentaire.

### 3) *Concentrations.*

Nous avons déjà signalé les constatations plus ou moins déconcertantes des auteurs suisses à ce sujet.

Dans un esprit de contrôle, nous nous sommes primitivement rallié aux concentrations de pentose et de sérum arrêtées dans leur technique. On sait que nos premiers résultats n'ont pas confirmé les chiffres avancés par MENKES.

Or, si l'on admet que la « pentolyse » épuise le pouvoir hydrolysant du sérum, le pourcentage de sucre dégradé doit diminuer, lorsque la quantité de pentose introduite s'élève.

Dans cette hypothèse, nous avons recherché si au contraire la diminution des quantités d'arabinose, mises en présence d'une même quantité de sérum, ne déterminait pas un accroissement du pourcentage de « pentolyse ».

#### EXPÉRIENCE N° 67 /511025.

On emploie le sérum frais d'un malade présumé cancéreux.

A des prises d'essai identiques de ce sérum (0,6 ml.), on ajoute des quantités croissantes d'arabinose (0,5 à 2 mg.) en solution aqueuse et sous le même volume final.

Les mélanges sont incubés deux heures au B.-M. à 37°, puis après défécation, on détermine dans chaque cas le pentose restant.

Le pourcentage d'arabinose disparu n'est pas constant. Il varie en fonction des proportions respectives de sérum et de substrat, ainsi qu'en témoignent les chiffres ci-après :

|                                                                                                           | <i>Milligrammes d'arabinose ajouté<br/>à la quantité standard de sérum (0,6 ml.)</i> |       |       |       |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                                                                                           | 0,5                                                                                  | 0,75  | 1     | 1,5   | 2     |
| Différences p. 100 entre<br>les quantités de pentose<br>retrouvées, et celles<br>initialement introduites | — 11,0                                                                               | — 4,7 | — 4,0 | + 1,3 | + 1,3 |

On voit d'après ces résultats que le « pouvoir pentoly-  
sant » d'un sérum diffère, selon qu'on lui présente une plus  
ou moins grande quantité de substrat. La « pentolyse »,  
nulle aux plus fortes concentrations d'arabinose, prend la  
valeur de 4 p. 100 dans les conditions opératoires reprodui-  
sant les proportions arrêtées par MENKES. Elle s'accroît au-  
delà pour atteindre le taux de 11 p. 100. si l'on diminue  
encore le rapport pentose/sérum.

On ne saurait tirer de cette unique série de chiffres une  
conclusion définitive, la répétition d'expériences analogues  
pouvant seule apporter à l'hypothèse émise une confirma-  
tion certaine. Toutefois, comme la diminution des quantités  
d'arabinose introduites dans la réaction semblait devoir  
logiquement entraîner un accroissement des pourcentages  
de pentose disparu, on possédait là un éventuel moyen de  
rendre plus perceptible le phénomène étudié.

C'est dans ce but que nous avons modifié le mode opé-  
ratoire primitivement choisi, en adoptant des proportions de  
sérum et d'arabinose différentes de celles de MENKES.

Le pentose est ajouté à une dose moitié moindre, puis-  
qu'on incube un mélange de 0,6 ml. de sérum et de 2 ml.  
de solution aqueuse d'arabinose à 1 p. 4.000 (soit 0,5 mg.).  
Dans ces conditions « favorables », la propriété spécifique  
décrite par MENKES devait pouvoir aisément se démontrer.

\*  
\*\*

Après avoir mis au point une technique d'étude du  
pouvoir pentolytique du sérum, en définissant, à propos de  
chaque temps étudié, les conditions d'une détermination  
correcte, il nous reste à exposer maintenant l'ensemble de  
la méthode.

## CHAPITRE III

---

# TECHNIQUE DE DÉTERMINATION DU POUVOIR PENTOLYTIQUE DU SÉRUM SANGUIN VALEUR COMPARÉE DES DEUX MÉTHODES

---

Nous ne reviendrons pas sur le principe de cette mesure, que l'on a pu lire p. 84. Nous éviterons de même, à propos du dosage, d'inutiles répétitions, notamment en ce qui concerne les formules des réactifs et la pratique de la colorimétrie.

### Réactifs.

- R. 1 Solution aqueuse d'arabinose à 0,025 g. p. 100 ml. (utilisable plusieurs jours en la conservant à la glacière).
- R. 2 Solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (\*).
- R. 3 Solution aqueuse de sulfate de zinc (\*).
- R. 4 Solution acétique d'acétate d'aniline (cf. p. 61).

### Mode opératoire.

*Prélèvement.* — Recueillir le matin sur le sujet à jeun, par ponction veineuse au pli du coude, 10 ml. de sang. Après coagulation et retrait du caillot, isoler le sérum et le centrifuger 5 minutes à 3.000 tours/minute.

---

(\*) Pour la préparation de ces réactifs défécants, voir p. 67.

L'analyse doit être effectuée dans le plus bref délai : quelques heures après la prise de sang.

*Incubation.* — Dans deux tubes à centrifuger, mesurer : dans l'un 2 ml. d'eau distillée, dans l'autre 2 ml. de solution d'arabinose (R. 1).

Introduire ensuite dans chacun d'eux 0,6 ml. de sérum clair, et mélanger.

Maintenir les tubes au B.M. à + 37° C pendant deux heures exactement.

*Défécation.* — Aussitôt après, ajouter dans chaque tube 0,7 ml. de solution de sulfate de zinc (R. 3), puis 0,7 ml. de soude (R. 2). Mélanger par agitation et centrifuger pendant 5 minutes à 3.000 tours/minute.

*Dosage.* — Dans des tubes à essais numérotés 1 et 2, mesurer 1 ml. de liquide clair surnageant des deux tubes à centrifuger correspondants.

Introduire par ailleurs dans un tube A : 1 ml. d'eau distillée, et dans un tube B : 0,5 ml. d'eau distillée et 0,5 ml. de solution d'arabinose (R. 1).

Ajouter dans les quatre tubes 3 ml. de solution acétique d'acétate d'aniline (R. 4). Mélanger. Noter l'heure.

Conserver les tubes, recouverts d'une plaque de verre, pendant 24 heures, à la température du laboratoire et à l'obscurité.

Mesurer alors au photomètre, en cuves de 10 mm. d'épaisseur, et sous écran bleu permettant une absorption maximum au voisinage de 430 mμ., l'opacité de chacun des mélanges.

#### Calcul des résultats.

Le tube A correspond à l'essai à blanc des réactifs. Son opacité doit être soustraite de celles de tous les autres essais.

Le tube B mesure la réaction étalon de la quantité d'arabinose introduite.

Le tube 1 fournit la valeur du témoin-sérum : substances normalement contenues dans le sérum et donnant une réaction avec l'acétate d'aniline (pentoses normaux, glucose).

Le tube 2 enfin permet d'évaluer l'arabinose restant après incubation.

La différence 2 — 1 correspond en effet au pentose non transformé. On peut dès lors en déduire le *pourcentage de pentose disparu* dans ces conditions, lequel par définition exprimera le *pouvoir pentolytique* du sérum.

Un exemple éclairera les données précédentes :

| N° des tubes           | A | B   | 1                                       | 2   |
|------------------------|---|-----|-----------------------------------------|-----|
| Opacité lue            | 8 | 131 | 45                                      | 166 |
| Opacité tare déduite   | / | 123 | 37                                      | 158 |
| Pentose restant        |   |     | /                                       | 121 |
| Pentose disparu        |   |     | (123-121)                               | 2   |
| Pentose disparu p. 100 |   |     | $\left(\frac{2 \times 100}{123}\right)$ | 1,6 |

\*  
\*\*

Telle est donc la méthode que nous avons systématiquement appliquée, dans l'étude des propriétés pentolytiques du sérum sanguin.

La valeur du dosage étant liée à celle de la réaction colorée à l'acétate d'aniline, nous en avons précédemment éprouvé la fidélité. Nous indiquions alors, on s'en souvient, que l'exécution de plusieurs essais identiques garantirait l'interprétation des résultats, en éliminant les écarts expérimentaux imputables à la seule technique.

C'est pourquoi, lors de toutes les mesures rapportées plus loin, nous avons utilisé dans chaque cas (réaction-étalon de l'arabinose, tube témoin du sérum, tube réaction de « pentolyse ») la moyenne de deux et généralement trois essais conduits simultanément.

## VALEUR COMPARÉE DES DEUX MÉTHODES D'ÉTUDE DE LA PENTOLYSE

Avant de faire part des résultats obtenus dans l'examen du sérum de différents sujets, il nous faut encore établir la validité de la technique ainsi mise au point.

Nous ne sommes autorisés à comparer nos chiffres à ceux avancés par MENKES, que si la méthode choisie et celle utilisée par les auteurs suisses fournissent des indications semblables.

Nous avons donc effectué le contrôle nécessaire, en appliquant à la fois à un même sérum la technique au furfural inspirée de celle de MENKES et notre mode opératoire personnel.

Le premier groupe d'essais a porté sur le sérum d'un sujet cancéreux, présentant une tumeur du rectum. Dans la méthode par réaction directe avec l'acétate d'aniline, l'agent déprotéinisant utilisé était exceptionnellement l'acide trichloracétique.

|                                 | O. T. D.            |       | Différence<br>p. 100 |
|---------------------------------|---------------------|-------|----------------------|
|                                 | avant<br>incubation | après |                      |
| 1) Méthode au furfural          | 179                 | 181   | + 1,1                |
| 2) Méthode par réaction directe | 291                 | 281   | — 3,4                |

Dans les essais ultérieurs, la méthode directe comportait, selon les conditions fixées par la suite, la défécation zincique.

Deux sérums ont été analysés :

- l'un d'un sujet normal, de sexe masculin,
- l'autre d'un malade cancéreux, porteur d'une tumeur du plancher de la bouche et du maxillaire inférieur droit.

Voici les chiffres obtenus :

|                        | O. T. D.            |       | Différence<br>p. 100 |
|------------------------|---------------------|-------|----------------------|
|                        | avant<br>incubation | après |                      |
| Sujet normal :         |                     |       |                      |
| 1) Méthode au furfural | 133                 | 136   | + 2,2                |
| 2) Méthode directe     | 359                 | 356   | — 0,8                |
| Sujet cancéreux :      |                     |       |                      |
| 1) Méthode au furfural | 152                 | 145   | — 4,6                |
| 2) Méthode directe     | 391                 | 386   | — 1,2                |

L'examen de ces résultats montre que les deux méthodes conduisent à des conclusions semblables.

Les valeurs trouvées pour un même sérum diffèrent, selon la technique employée, de 3 ou 3,4 et dans le cas le moins favorable de 4,5 p. 100. Ces écarts en plus ou en moins tiennent aux conditions expérimentales. Ils n'atteignent par l'ordre de grandeur des plus petites variations significatives d'une « pentolyse ».

Nous estimons donc être en droit d'appliquer notre propre mode opératoire et d'en tirer, à l'égard des résultats de MENKES, une conclusion valable.

## CHAPITRE IV

---

# LA PROPRIÉTÉ PENTOLYTIQUE DANS LES ÉTATS CANCÉREUX

---

### I) L'EXPÉRIMENTATION SUR LE SÉRUM SANGUIN

La « pentolyse » ayant été présentée comme une réaction spécifique des affections néoplasiques, notre intention était de pratiquer systématiquement cet examen chez les malades du Centre Régional Anti-Cancéreux, dans le but d'en obtenir des indications d'ordre diagnostique et peut-être pronostique.

Cette application clinique quotidienne ne pouvait intervenir qu'une fois bien établis les points suivants :

1° La dégradation *in vitro* des pentoses est la manifestation constante d'une activité propre au sérum sanguin des sujets cancéreux.

2° Ni le sérum des sujets normaux, ni celui de malades atteints d'autres affections ne possèdent une telle propriété.

Cette vérification préalable impliquait donc la nécessité d'effectuer la détermination du pouvoir pentolytique sur trois groupes d'individus :

— Des « normaux », hommes et femmes « cliniquement sains », de différents âges.

— Des cancéreux (sans distinction pour l'instant de la nature et de la localisation des tumeurs, et de même sans considération d'autres données : stade de l'évolution, infection surajoutée, état général du sujet, répercussion possible du traitement institué).

— Des malades non cancéreux, atteints d'affections diverses chroniques ou passagères.

Sur la base de cette classification, nous rapportons ci-dessous les résultats d'environ 300 déterminations pratiquées chez une centaine de sujets.

1. — Détermination du pouvoir pentolytique  
chez des sujets cancéreux.

| <i>Sexe</i> | <i>Age</i> | <i>Localisation de la tumeur</i>          | <i>Pourcentage de<br/>pentose disparu</i> |
|-------------|------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
| H           | 74         | Tête du pancréas                          | 5,6                                       |
| F           | 60         | Col utérin                                | 2,5                                       |
| F           | 77         | Peau (région temporale)                   | 8,9                                       |
| F           | 44         | Col utérin                                | 0,8                                       |
| H           | 36         | Maladie de Hodgkin                        | 0                                         |
| F           | 67         | Col utérin                                | 4,6                                       |
| F           | 62         | Col utérin                                | 2,0                                       |
| F           | 41         | Sein                                      | 2,1                                       |
| F           | 48         | Maxillaire droit                          | 15,6                                      |
| F           | 54         | Vagin                                     | 10,9                                      |
| H           | 72         | Langue                                    | 3,6                                       |
| H           | 56         | Sillon glosso-épiglottique                | 3,2                                       |
| H           | 57         | Adénopathie secondaire du cou             | 0,3                                       |
| H           | 48         | Lèvre                                     | 0                                         |
| H           | 77         | Verge                                     | 2,6                                       |
| H           | 68         | Lèvre                                     | 9,4                                       |
| H           | 77         | Nez                                       | 5,8                                       |
| H           | 68         | Pharynx                                   | 2,9                                       |
| H           | 51         | Plancher de la bouche                     | 2,3                                       |
| H           | 52         | Amygdale                                  | 2,5                                       |
| H           | 73         | Pharynx                                   | 4,4                                       |
| H           | 55         | Langue                                    | 4,7                                       |
| H           | 67         | Pharynx                                   | 0                                         |
| H           | 60         | Lèvre inférieure                          | 1,0                                       |
| H           | 68         | Lèvre                                     | 0                                         |
| H           | 58         | Langue                                    | 2,6                                       |
| H           | 46         | Langue                                    | 0                                         |
| H           | 55         | Leucosarcomatose                          | 3,6                                       |
| H           | 60         | Larynx                                    | 6,9                                       |
| H           | 62         | Lèvre                                     | 4,9                                       |
| H           | 52         | Langue                                    | 3,3                                       |
| H           | 60         | Plancher de la bouche                     | 3,6                                       |
| H           | 56         | Lèvre inférieure                          | 1,3                                       |
| H           | 65         | Pharynx                                   | 0                                         |
| H           | 49         | Plancher de la bouche, Maxillaire, Langue | 0                                         |
| H           | 48         | Hypo-pharynx                              | 3,3                                       |
| H           | 50         | Pharynx                                   | 0                                         |
| H           | 70         | Peau                                      | 0                                         |
| H           | 73         | Maxillaire inférieur                      | 0                                         |
| H           | 60         | Langue                                    | 0,7                                       |
| H           | 68         | Pharynx                                   | 0                                         |
| H           | 46         | Lèvre inférieure                          | 0                                         |
| H           | 67         | Muqueuse jugale droite                    | 10,6                                      |
| H           | 45         | Plancher de la bouche                     | 11,4                                      |
| H           | 42         | Amygdale et gencive                       | 0,8                                       |
| F           | 32         | Col utérin                                | 0,8                                       |
| F           | 74         | Sein                                      | 3,2                                       |
| F           | 54         | Vagin                                     | 1,6                                       |
| F           | 60         | Col utérin                                | 5,3                                       |
| F           | 38         | Vagin                                     | 5,3                                       |

2. — Détermination du pouvoir pentolytique  
chez des sujets normaux.

| <i>Sexe</i> | <i>Age</i> | <i>Pourcentage de<br/>pentose disparu</i> |
|-------------|------------|-------------------------------------------|
| H           | 26         | 5,1                                       |
| H           | 21         | 0,9                                       |
| H           | 40         | 5                                         |
| H           | 29         | 5,7                                       |
| F           | 47         | 6                                         |
| F           | 35         | 6,6                                       |
| H           | 23         | 1,7                                       |
| H           | 40         | 0                                         |
| H           | 52         | 0                                         |
| H           | 38         | 0                                         |
| H           | 19         | 1,6                                       |
| H           | 23         | 9,7                                       |
| H           | 31         | 3,4                                       |
| F           | 26         | 0,3                                       |
| H           | 48         | 1,3                                       |
| H           | 33         | 3,8                                       |
| H           | 41         | 0                                         |
| H           | 35         | 5,7                                       |
| F           | 56         | 4,3                                       |
| H           | 40         | 0                                         |
| H           | 32         | 2,0                                       |
| H           | 42         | 0,9                                       |
| F           | 49         | 0                                         |
| F           | 42         | 2,1                                       |
| F           | 58         | 2,9                                       |
| H           | 33         | 0                                         |
| H           | 50         | 0                                         |
| H           | 49         | 0                                         |
| F           | 52         | 0                                         |

3. — Détermination du pouvoir pentolytique chez des sujets  
atteints d'affections non cancéreuses.

| <i>Sexe</i> | <i>Age</i> | <i>Nature de l'affection</i> | <i>Pourcentage de<br/>pentose disparu</i> |
|-------------|------------|------------------------------|-------------------------------------------|
| H           | 51         | Cirrhose avec ascite         | 7,0                                       |
| H           | 41         | Ulcère pré-pylorique         | 8,4                                       |
| F           | 16         | Méningite tuberculeuse       | 6,7                                       |
| F           | 33         | Méningite tuberculeuse       | 7,4                                       |
| F           | 21         | Méningite tuberculeuse       | 6,6                                       |
| H           | 33         | Hémorragies méningées        | 4,5                                       |
| H           | 23         | Méningite ourlienne          | 4,5                                       |
| H           | 17         | Typhoïde                     | 1,9                                       |
| H           | 39         | Typhoïde                     | 6,3                                       |
| H           | 49         | Cirrhose avec ascite         | 6,9                                       |

| <i>Sexe</i> | <i>Age</i> | <i>Nature de l'affection</i>          | <i>Pourcentage de<br/>pentose disparu</i> |
|-------------|------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|
| F           | 40         | Cirrhose                              | 1,9                                       |
| H           | 61         | Tuberculose pulmonaire                | 2,6                                       |
| H           | 58         | Diarrhée du type sprue nostras        | 4,6                                       |
| F           | 37         | Cirrhose éthylique hypertrophique     | 0                                         |
| H           | 28         | Tuberculose pulmonaire                | 0                                         |
| H           | 54         | Tuberculose pulmonaire                | 0,8                                       |
| H           | 39         | Tuberculose pulmonaire                | 2,2                                       |
| H           | 39         | Tumeur costale                        | 19,0                                      |
| H           | 49         | Tumeur cutanée de la paroi abdominale | 6,0                                       |

Nous limitons ce chapitre au simple exposé des résultats expérimentaux, nous réservant de revenir plus loin sur les conclusions qui nous paraissent s'en dégager.

Auparavant nous ferons brièvement état d'un autre ordre de recherches.

## II) ESSAI DE MISE EN ÉVIDENCE D'UN POUVOIR PENTOLYTIQUE DU TISSU CANCÉREUX

Bien que la précédente étude n'ait pas conduit à l'obtention de « pentolyses » démonstratives, on pouvait espérer que le tissu cancéreux lui-même posséderait, à un plus haut degré, la propriété attribuée par MENKES au sérum sanguin.

Le contrôle d'une telle hypothèse impliquait la détermination du pouvoir pentolytique sur des extraits de tumeurs.

Nous n'avons fait qu'ébaucher cette recherche, ne disposant pas du temps nécessaire à une mise au point complète, puis à une exécution systématique. Nous exposerons néanmoins les résultats d'un premier essai « d'approche ».

### EXPÉRIENCE N° 89 /520409.

On prélève, immédiatement après l'ablation chirurgicale, des fragments d'une tumeur thyroïdienne, constitués par du tissu cancéreux, non nécrotique et sans éléments thyroïdiens.

Plusieurs nodules rougeâtres, du volume d'une noix, de consistance ferme et d'un poids total d'environ 38 g., sont découpés en menus morceaux, puis soigneusement broyés au mortier avec du sable lavé jusqu'à obtention d'une bouillie à peu près homogène.

On triture intimement la masse avec 25 ml. d'eau distillée, puis on exprime le mélange à travers une toile et l'on centrifuge à grande vitesse.

On recueille un liquide surnageant, d'aspect lactescent et légèrement rose, sur lequel on effectue la recherche d'un pouvoir pentolytique, selon la technique décrite pour le sérum.

Dans trois déterminations identiques, la quantité d'arabinose retrouvée est égale à celle introduite, ce qui revient à dire que la « pentolyse » est nulle, et vérifie une fois encore la correction de la méthode proposée.

Ces résultats signifient-ils l'absence de toute propriété pentolytique dans le tissu cancéreux, ou traduisent-ils simplement un défaut d'extraction ? Les traitements employés assurent en tout cas le passage dans le liquide analysé d'un corps réagissant avec l'acétate d'aniline (vraisemblablement du glucose), ainsi que l'atteste la coloration de témoins (tubes 1).

Encore une fois on ne saurait prendre argument de ces seuls essais pour nier la présence dans le tissu cancéreux d'agents susceptibles de dégrader les pentoses. Néanmoins leur existence nous semble actuellement peu probable.

---



## CHAPITRE V

---

### DISCUSSION ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

---

La simple lecture des tableaux d'ensemble, au chapitre précédent, aura mis en lumière la divergence de nos résultats avec ceux des auteurs suisses.

Nous pouvons en effet nous en tenir strictement aux données de MENKES quant à l'interprétation des chiffres obtenus: pour lui, seuls les pourcentages de pentose disparu supérieurs à 10 p. 100 sont la marque d'une « pentolyse positive ».

A cet égard, sur 50 sérums de malades cancéreux examinés, 4 seulement nous auraient fourni un résultat conforme, encore que les taux d'arabinose disparu, pour autant qu'ils dépassaient la limite inférieure de 10 p. 100, n'atteignaient pas les valeurs considérables annoncées.

Chez 29 sujets normaux, l'analyse a toujours conduit à des résultats négatifs.

Enfin, parmi 19 malades atteints d'affections non cancéreuses, nous n'avons rencontré qu'une seule fois une « pentolyse positive », à propos de laquelle on aurait pu mettre en cause un éventuel facteur infectieux ; mais nous n'avons pas eu la possibilité d'en faire la preuve, le malade ayant quitté le service.

Hormis les cinq cas signalés, pour lesquels nous regrettons de n'avoir pu effectuer systématiquement de nouvelles analyses sur des prélèvements répétés, la grande majorité de nos chiffres correspond à des résultats négatifs.

Force nous est donc, en conclusion de nos expériences, de faire ces deux constatations :

1° Nous n'avons déterminé qu'exceptionnellement une disparition sensible de l'arabinose en présence de sérum cancéreux.

Or, bien que les malades, porteurs de tumeurs de localisations variées, soient examinés à des stades différents de l'évolution maligne (alors que la « pentolyse » serait la plus nette à la phase de cancérisation), et malgré l'influence possible des divers traitements pratiqués ou en cours, on était en droit d'attendre, sur l'ensemble des sérums essayés, un assez grand nombre de résultats positifs, avec pour certains un fort pourcentage de pentose dégradé.

2° Comme nous l'avons déjà annoncé (16), l'étude comparative des sérums de trois catégories de sujets : normaux, cancéreux, malades atteints d'autres affections, n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative d'un groupe à l'autre.

\*  
\*\*

De telles conclusions viennent à l'encontre des catégoriques affirmations de MENKES.

Les résultats de cet auteur s'étaient sur une étude biochimique apparemment approfondie du phénomène de « pentolyse », suivie d'une application expérimentale plus étendue que la nôtre.

Nous formulons toutefois deux remarques qui nous paraissent des arguments valables :

1) La première tient au dosage des pentoses :

MENKES n'ignore pas les difficultés de cette évaluation, puisqu'il met en garde contre les conclusions hâtives que l'on pourrait tirer d'une exécution imparfaite de cette analyse.

Il connaît les limites de précision de la technique employée, ainsi qu'en témoigne la forte marge de sécurité qu'il accorde à l'interprétation des chiffres obtenus : le résultat, négatif entre 0 et 5 p. 100 de pentose disparu, reste douteux jusqu'au taux de 10 p. 100.

Mais l'emploi d'une courbe d'étalonnage unique, tel qu'il l'indique, apporte-t-il une garantie suffisante contre les nombreux facteurs susceptibles d'influencer la transformation en furfural et la réaction colorée de l'aldéhyde ?

Nous avons pour notre part insisté sur la nécessité d'effectuer, lors de *chaque* détermination, un essai étalon conduit simultanément et dans des conditions identiques, pour éliminer toute variation imputable aux modalités opératoires.

La mise en évidence et la mesure de la « pentolyse » ne reposent-elles pas entièrement sur l'évaluation correcte du pentose introduit et retrouvé ?

2) La seconde remarque concerne la « preuve biochimique » du phénomène par la positivité des réactions caractérisant l'acide lactique et l'aldéhyde glycolique : ces corps, identifiés par MENKES dans le sérum cancéreux ayant donné une pentolyse positive, représentent selon lui les métabolites en  $C_3$  et  $C_2$  issus de la dégradation des pentoses.

Si le terme en  $C_2$  semble effectivement plus spécifique, la présence d'acide lactique est-elle par contre à ce point concluante ?

Et nous posons la question de savoir si les mêmes réactions ont été pratiquées avant l'incubation à  $+37^{\circ}C$  ou sur des sérums n'ayant provoqué aucune disparition de pentose, et dans chacun de ces cas quel en a été le résultat.

\*  
\*\*

Les publications de MENKES ne pouvaient manquer de susciter d'autres recherches.

Ce n'est qu'au terme de notre propre expérimentation que nous avons eu connaissance des premiers travaux allemands : Le contrôle entrepris par KUBOWITZ et WIEDING (32) les conduisait à des conclusions semblables aux nôtres. Dans une vingtaine de cas examinés, la « pentolyse » ne confirmait pas un diagnostic clinique qui, lui, était sans équivoque. Aucune dégradation de pentose ne se produisait, tant dans le sérum de malades cancéreux que dans celui de rats cancérisés.

De la même façon les vérifications, auxquelles procédaient DRICKREY et KAISER (17), ne permettaient pas à ces auteurs de retrouver la propriété pentolytique annoncée.

Plus tard STEEN, collaborateur de MENKES dans l'application de l'analyse aux rats porteurs de sarcomes induits, devait revenir catégoriquement sur ses premières affirmations (52).

Constatant en effet des résultats contradictoires lors d'essais ultérieurs avec la méthode à l'orcine, il instituait une nouvelle série d'expériences, mettant en œuvre pour la détermination des pentoses, d'une part la technique de ROE et RICE (48), et de l'autre celle de TRACEY (60) que nous avons précisément adoptée. La défécation étant réalisée par le réactif de SOMOGYI, le mode opératoire se trouvait ainsi très proche de celui que nous avons personnellement choisi.

Avant apprécié l'ordre de grandeur que pouvait atteindre l'erreur sur la mesure des pentoses, en fonction des très faibles concentrations de substrat utilisées, STEEN établissait du même coup que les résultats de ses détermi-

nations antérieures tombaient dans les limites d'erreurs expérimentales.

Il infirmait en conséquence l'existence d'une propriété pentolytique dans le sang des rats cancérisés par le 20-méthyl-cholanthrène.

\*  
\*\*

Le ton de ces différents auteurs reflète une opinion que nous nous sommes identiquement forgée et leurs conclusions nous auraient confirmé, s'il était nécessaire, dans l'impression qui se dégageait de nos propres recherches.

Aussi bien nous n'estimons pas possible aujourd'hui de conserver une illusion sur la valeur de la « pentolyse » en tant que réaction spécifique des sérums cancéreux. L'application de cette méthode est incapable d'apporter au diagnostic des affections néoplasiques un élément positif.

Suivant un sort commun, la « pentolyse » ira grossir les rangs des multiples « tests » qui, par les voies les plus diverses, tentent d'aborder un même et délicat problème : la détection au laboratoire des états cancéreux.

Technique séduisante par son originalité et qui, après beaucoup d'autres, s'avérerait particulièrement riche de possibilités, il serait un peu décevant de la voir se révéler inopérante, si dans tout domaine l'aboutissement de recherches même négatives ne constituait pas, si faible soit-il, un apport.

---

## Conclusions

---

### PREMIÈRE PARTIE

1) La classique transformation des pentoses en furfural sous l'influence d'un chauffage en milieu acide n'est jamais complète. Nous avons étudié de façon systématique l'influence de la nature et de la concentration de l'acide, de la température atteinte, de la durée du chauffage sur le rendement de la réaction. Nos efforts pour fixer des conditions opératoires assurant un rendement rigoureusement constant (à défaut d'être quantitatif) ont été infructueux.

2) Par contre, l'entraînement par la vapeur d'eau du furfural produit est quantitatif et la coloration rose donnée par le furfural en présence d'acétate d'aniline se prête bien au dosage photométrique de cet aldéhyde.

\*  
\*\*

3) L'acétate d'aniline donne *directement* à froid, avec les pentoses, une réaction colorée qui s'avère différente de la réaction donnée par le furfural : elle est très lente, conduit à l'obtention d'une coloration jaune qui se prête, moyennant quelques précautions, à un dosage photométrique.

4) Les différents pentoses examinés (xylose, ribose, arabinose) donnent des réactions du même ordre, mais quantitativement différentes. Les hexoses, et en particulier le glucose, interfèrent, mais des différences dans la cinétique et l'usage d'un témoin permettent néanmoins de rendre spécifique et précis le dosage d'un pentose déterminé. En solution pure, la précision est de l'ordre de  $\pm 2$  p. 100 ; on retrouve avec la même exactitude un pentose ajouté au sérum.

## DEUXIÈME PARTIE

5) Assuré de la validité du dosage des pentoses, nous avons entrepris de vérifier une réaction présentée par G. MENKES comme constante et spécifique : la dégradation des pentoses par le sérum cancéreux. Nos constatations sont les suivantes :

6) Certains échantillons de sérum sanguin, mis en contact à  $+37^{\circ}\text{C}$  avec un pentose (arabinose) en évitant toute altération microbienne, ont la propriété de « détruire » le pentose. Cette transformation, nommée pentolyse en raison de ses analogies avec la glycolyse, n'est jamais totale. La fraction disparue ne s'est révélée supérieure à 10 p. 100 que dans 5 p. 100 des cas, sur près de 100 déterminations effectuées.

7) Contrairement aux affirmations de MENKES, la pentolyse *n'est pas spécifique* du sérum cancéreux ; une dégradation identique se produit avec certains échantillons de sérum normal ou de sérum provenant de sujets atteints d'affections diverses non cancéreuses. C'est pourquoi la pentolyse nous paraît inutilisable pour le diagnostic chimique des affections néoplasiques.

*Le Doyen,*  
H. HERMANN

*Le Président de la Thèse,*  
A. LEULIER

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 4 Mars 1953.

*Pour le Recteur et par Délégation,*  
LE VICE-PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,  
M. NICOLAS.

---

## Bibliographie

---

(Les pages de la thèse, où il est fait mention des publications citées, sont indiquées entre parenthèses après chaque référence).

1. ADAMS (G. A.), CASTAGNE (A. E.). — Some factors affecting the determination of furfural. *Canad. J. Res. (B)*, **26**, 314-324, 1948.  
(25, 26, 28, 37, 47, 56)
2. AVANTURIER (G.). — Les liqueurs cupri-carbonatées minérales. Leur application au dosage des sucres réducteurs par le réactif arsénomolybdique, en biologie. *Thèse Doct. en Pharm.*, Lyon, 1950.  
(67)
3. BARKER (S. B.), SUMMERSON (W. H.). — The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *J. Biol. Chem.*, **138**, 535-554, 1941.  
(74)
4. BERTHELOT (M.), ANDRÉ (G.). — Recherches sur l'arabinose. *C. R.*, **123**, 625-631, 1896.  
(19, 20, 22, 28, 33)
5. BIONDA (G.). — Nouvelle méthode de dosage du furfural. *Ann. Chim. Applicata*, **31**, 31-34, 1941.  
(34)
6. BRACHET (J.). — La détection histo-chimique et le microdosage des acides pentosenucléiques. *Enzymologia*, **10**, 87-96, 1941.  
(22, 25, 29, 31, 75)
7. BROWN (A. H.). — Determination of pentose in the presence of large quantities of glucose. *Arch. Biochem.*, **11**, 269-278, 1946.  
(35)
8. BRYANT (E. F.), PALMER (G. H.), JOSEPH (G. H.). — Determination of Pectin in Biological Materials. Modification of Pentose-Furfural Method. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **16**, 74-76, 1944.  
(25)
9. CAMPBELL (W. G.), SMITH (L. H.). — *Biochem. J.*, **31**, 535, 1937.  
(34, 48)

10. DAVIDSON (J. N.), WAYMOUTH (C.). — Tissue Nucleic Acids. I. Ribonucleic acids and nucleotides in embryonic and adult tissue. *Biochem. J.*, **38**, 39-50, 1944.  
(35)
11. DE CHALMOT (G.). — Soluble Pentoses in Plants. *Am. Chem. J.* **15**, 21-38, 1893.  
(36)
12. DISCHE (Z.), BORENFREUND (E.). — A specific color reaction of glycolic aldehyde. *J. Biol. Chem.*, **180**, 1297-1300, 1949.  
(74)
13. DORCHE (J.), MATHIAN (P.), AVANTURIER (G.). — Les liqueurs cupri-carbonatées minérales. Leur application au dosage des sucres réducteurs. *Lyon Pharm.*, 139-154, 1951.  
(66)
14. DOREE. — Methods of Cellulose Chemistry. — Chapman and Hall, London, 1947 (pp. 377, 381, 385).  
(34, 47)
15. DOX (A. W.), PLAISANCE (G. P.). — A comparison of barbituric acid, thiobarbituric acid and malonylguanidine as quantitative precipitants for furfural. *J. Amer. Chem. Soc.*, **38**, 2156-2164, 1916.  
(34)
16. DREVON (B.), ROULLET (M.). — A propos de la pentolyse de l'arabinose par le sérum cancéreux. *Soc. Biologie de Lyon*, séance du 7 juillet 1952.  
(104)
17. DRUCKREY (H.), KAISER (K.). — Zur Pentolyse-Reaction im Serum Krebskranker nach Menkes. *Naturwissenschaften*, **38**, 193-194, 1951.  
(105)
18. DUNCAN (I. J.). — Determination of Furfural. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **15**, 162-164, 1943.  
(42)
19. DUNSTAN (S.), GILLAM (A. E.). — A micro-method for the determination of pentoses by photoelectric spectrophotometry. *J. Chem. Soc.*, 140-144, 1949.  
(25, 26, 35, 48)
20. EULER (H.), HANN (L.). — *Svensk. Kem. Tidskrift*, **58**, 251, 1946.  
(34)
21. FLEURY (P.), POIROT (G.). — Nouvelle méthode de dosage de petites quantités de furfural par colorimétrie. *Journ. Pharm. et Chim.*, **26**, 87-96, 1922.  
(35)
22. FULMER (E. I.), CHRISTENSEN (L. M.), HIXON (R. M.), FOSTER (R. L.). — Production de furfural à partir de solutions de xylose, par le système HCl — ClNa. *J. phys. Chem.*, **40**, 133-141, 1936.  
(22)

23. HEINES (V.). — Micro-determination of pentoses by the bisulfite method. *Arch. Biochem.*, **11**, 531-535, 1946.  
(25, 34)
24. HUGHES (E. E.), ACREE (S. F.). — Quantitative Estimation of Furfural at 0°C. with Bromine. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **6**, 123-124, 1934. — Analysis of Mixtures of Furfural and Methylfurfural. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **9**, 318-321, 1937.  
(34)
25. HUGHES (E. E.), ACREE (S. F.). — Formation quantitative de furfural à partir de xylose. *Bur. Standards J. Research*, **21**, 326-327, 1938.  
(25, 28, 29, 41)
26. HURD (C. D.), ISENHOUR (L. L.). — Pentose Reactions. I. Furfural formation. *Am. Chem. Soc.*, **54**, 317-330, 1932.  
(20, 21, 25, 48)
27. IDDLIS (H. A.), ROBBINS (P. J.). — Determination of Furfural produced from Hardwoods. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **5**, 55-57, 1933.  
(34)
28. JAYME (G.), SARTEN (P.). — Über die quantitative Bestimmung von Furfural, Pentosen, und Pentosanen. *Biochem. Z.*, **308**, 109-115, 1941 — **310**, 1-27, 1941 — **312**, 78-88, 1942.  
(25, 34)
29. JOLLES (A.). — Über eine titrimetrische Methode zur quantitativen Bestimmung der Pentosen. *Ber. D. chem. G.*, **39**, 96-97, 1906.  
(34)
30. KLINE (G. M.), ACREE (S. F.). — Dosage volumétrique des pentoses et des pentosanes. *Bur. Standards J. Research*, **8**, 25-35, 1932.  
(25, 28, 34, 47)
31. KREMANN (R.), KLEIN (H.). — Zur Kinetik der Furfuralbildung aus Pentosen (Arabinose). *Monatsh. f. Ch.*, **38**, 63-75, 1917.
32. KUBOWITZ (F.), WIEDING (I.). — Gibt es eine Pentolyse im Krebsserum? *Zschr. ges. inn. Med.*, **6**, 142-145, 1951.  
(105)
33. LECHNER (R.), ILLIG (R.). — Über die Ausnutzung der Pentosen bei der biologischen Eiweiss-synthese. *Biochem. Z.*, **299**, 174-193, 1938.  
(34)
34. LING (A. R.), NANJI (D. R.). — A method of estimating phenylhydrazine volumetrically and its application to the estimation of pentosans and pentoses. *Biochem. J.*, **15**, 466-468, 1921.  
(34)
35. MAC RARY, SLATTERY. — *Arch. Biochem.*, **6**, 151, 1945.  
(35)

36. MASSART (L.), HOSTE (J.). — Le dosage photométrique des nucléosides puriques et pyrimidiques au moyen de la réaction à l'orcine. *Biochim. et Biophys. Acta*, **1**, 83-86, 1947.  
(35)
37. MEJBAUM (W.). — Über die Bestimmung kleiner Pentosemengen, insbesondere in Derivaten der Adenylsäure. *Zs. physiol. Chem.*, **258**, 117-120, 1939.  
(35)
38. MENKES (G.). — Recherches sur la propriété pentolytique du sérum sanguin. *Bull. Acad. suisse des Sc. méd.*, **5**, 280-287, 1949.  
(73)
39. MENKES (G.). — Recherches sur la propriété pentolytique du sérum sanguin : étude du ferment et du processus de dégradation. *Arch. des Sciences*, **2**, 337-339, 1949. — Pentolyse et glycolyse. **2**, 386-393, 1949.  
(73)
40. MENKES (G.). — Une nouvelle méthode de diagnostic du cancer : étude portant sur 176 cas. *Méd. et Hyg.*, 369-370, 1949.  
(73)
41. MENKES (G.). — La pentolyse, son application au diagnostic du cancer. *Helvet. med. acta*, **18**, 125-141, 1951.  
(22, 73)
42. MENKES (G.). — Pentolyse et diagnostic du cancer. *Rev. méd. Suisse rom.*, **71**, 251-252, 1951.  
(73)
43. MENKES (G.), BOPP (A.), SCRIBANTE (P.). — La Pentolyse. I. Etude biochimique de la pentolyse. *Acta Unio Intern. contra Cancrum*, **7**, 573-577, 1951.  
(71, 73)
44. MENKES (G.), RENTCHNICK (P.), STEEN (S.). — La Pentolyse. II. Une nouvelle méthode de diagnostic des tumeurs malignes. *Acta Unio Intern. contra Cancrum*, **7**, 578-583, 1951.  
(73, 76)
45. PERVIER (N. C.), GORTNER (R. A.). — The Estimation of Pentoses and Pentosans. II. The Determination of Furfural. *Ind. Eng. Chem.*, **15**, 1255-1262, 1923.  
(34)
46. POWELL (W. J.), WHITTAKER (H.). — The determination of pentosans in wood cellulose. *J. Soc. Chem. Ind.*, **43**-T, 35-36, 1924.  
(34)
47. REEVES (R. E.), MUNRO (J.). — Quantitative Determination of Pentoses. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **12**, 551-553, 1940.  
(25)
48. ROE (J. H.), RICE (E. W.). — A photometric method for the determination of free pentoses in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **173**, 507-512, 1948.  
(22, 43, 105)

49. SOMOGYI (M.). — Determination of Blood sugar. *J. Biol. Chem.*, **160**, 69-73, 1945.  
(66)
50. STEEN (S. N.). — Further study of pentolysis. *Arch. Biochem.*, **26**, 457-458, 1950.  
(73, 76)
51. STEEN (S. N.). — Blood pentolysis in rats bearing induced sarcomata. *J. Natl. Cancer Inst.*, **11**, 61-71, 1950.  
(73, 76)
52. STEEN (S. N.). — Blood pentolysis in rats bearing induced sarcomas : an evaluation. *J. Natl. Cancer Inst.*, **12**, 195-196, 1951.  
(105)
53. STILLINGS (R. A.), BROWNING (B. L.). — Photocolorimetric Determination of Furfural. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)*, **12**, 499-502, 1940.  
(38)
54. STONE (W. E.). — Über die quantitative Bestimmung von Pentosen in Vegetabilien. *Ber. D. chem. G.*, **24**, 3019-3021, 1891.  
(25, 34)
55. STONE (W. E.), TOLLENS (B.). — Über Furfurolbildung als Reaction auf Arabinose. *Ber. D. chem. G.*, **21**, 2150-2152, 1888.  
(15, 19, 25, 33)
56. TOLLENS (B.), ALLEN (E. W.). — Notiz über Xylose und Holzgummi aus Stroh und anderen Materialien. *Ber. D. chem. G.*, **23**, 137, 1890.  
(19, 22)
57. TOLLENS (B.), DE CHALMOT (G.). — Über die quantitative Bestimmung von Penta-Glycosen in Vegetabilien. *Ber. D. chem. G.*, **24**, 694-695, 1891.  
(19, 33, 47)
58. TOLLENS (B.), GUNTHER (A.). — Über quantitative Bestimmung von Furfurol und Pentaglycosen. *Ber. D. chem. G.*, **23**, 1751-1752, 1890.  
(19)
59. TORRICELLI (A.). — Dosage des méthyl-pentoses et des méthyl-pentosanes en présence de substances furfuroides. *Mitt. Lebensmittelunters.*, **36**, 251-273, 1945.  
(25, 33, 34)
60. TRACEY (M. V.). — A colorimetric method for the determination of pentoses in the presence of hexoses and uronic acids. *Biochem. J.*, **47**, 433-436, 1950.  
(16, 50, 52, 54, 56, 58, 105)
61. VEKSLER (R. I.). — Spectrophotometric determination of aldehydes. II. 2-Furaldehyde and formaldehyde present together. *Zhur. Anal. Khim.*, **4**, 14-20, 1949.  
(35)

62. WHITE (F. D.), GREEN (A. C.). — A critical Comparison of Colour Tests for Fructose, Pentoses and Glycuronates in Urine. *Trans. roy. Soc. Can., Sect. V*, **26**, 145-157, 1932.  
(49)
63. YOUNGBURG (G. E.), PUCHER (G. W.). — Studies on pentose metabolism. I. A colorimetric method for the estimation of furfural. *J. Biol. Chem.*, **61**, 741-746, 1924.  
(41)
-

## Table des Matières

---

|                                                                                                   | PAGES |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| INTRODUCTION .....                                                                                | 11    |
| <i>Première Partie</i>                                                                            |       |
| LE DOSAGE DES PENTOSE                                                                             | 13    |
| TITRE I. — <i>Dosage des pentoses par transformation en furfural</i> .....                        | 17    |
| <i>Chapitre I.</i> — La réaction de transformation.....                                           | 19    |
| <i>Chapitre II.</i> — Le dosage du furfural.....                                                  | 33    |
| <i>Chapitre III.</i> — Application au dosage des pentoses. Etude du rendement de la réaction..... | 45    |
| TITRE II. — <i>Dosage des pentoses par réaction directe avec l'acétate d'aniline</i> .....        | 49    |
| <i>Chapitre I.</i> — Etude de la réaction colorée directe .....                                   | 51    |
| <i>Chapitre II.</i> Mode opératoire proposé.....                                                  | 61    |
| <i>Deuxième Partie</i>                                                                            |       |
| RECHERCHES SUR LA PENTOLYSE SÉRIQUE                                                               | 69    |
| TITRE I. — <i>Les travaux de G. Menkes</i> .....                                                  | 73    |
| TITRE II. — <i>Recherches personnelles</i> .....                                                  | 79    |
| <i>Chapitre I.</i> — Essais pratiqués avec la méthode au furfural.....                            | 81    |

|                                                                                                                                       | PAGES |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <i>Chapitre II.</i> — Mise au point expérimentale de la méthode d'étude.....                                                          | 83    |
| <i>Chapitre III.</i> — Technique de détermination du pouvoir pentolytique du sérum sanguin.<br>Valeur comparée des deux méthodes..... | 93    |
| <i>Chapitre IV.</i> — La propriété pentolytique dans les états cancéreux :                                                            |       |
| 1) L'expérimentation sur le sérum sanguin.                                                                                            | 97    |
| 2) Essai de mise en évidence d'un pouvoir pentolytique du tissu cancéreux.....                                                        | 100   |
| <i>Chapitre V.</i> — Discussion et interprétation des résultats .....                                                                 | 103   |
| CONCLUSIONS .....                                                                                                                     | 107   |
| BIBLIOGRAPHIE .....                                                                                                                   | 109   |

---



